

TARTU ÜLIKOOL
LOODUS- JA TÄPPISTEADUSTE VALDKOND
FÜÜSIKA INSTITUUT

Elyne Aaviksoo

**Aatomkihtsadestatud tsirkooniumdioksiidil põhinevad
funktsionaalsed katted meditsiinilisele titaanile**

Magistritöö (30 EAP)

Materjaliteadus

Juhendajad: MSc Mairo Merisalu,
PhD Kristina Mäemets-Allas,
prof. Väino Sammelselg

Kaitsmisele lubatud (.....)

allkiri, kuupäev

Tartu 2017

INFOLEHT

Aatomkihtsadestatud tsirkooniumdioksiidil põhinevad funktsionaalsed katted meditsiinilisele titaanile

Käesolevas töös uuriti võimalusi meditsiinilise titaani bioühilduvuse ja korrosioonikindluse parandamiseks, kasutades mehaanilist ja keemilist eeltötlust ning aatomkihtsadestatud tsirkooniumdioksiidist (ehk tsirkooniast) katteid. Eelnevalt liivapritsiiga karestatud meditsiinilist titaani töödeldi keemiliselt, kasutades vaheldumisi kaht erinevat lahust: NaOH/H₂O₂ segu ning HCl. Mehaaniliselt ja keemiliselt karestatud pinnad kaeti aatomkihtsadestamise meetodil tsirkoonia kiledega, kasutades lähteaineteks ZrCl₄ ja H₂O. Keraamiliste kilede sadestamine viidi läbi temperatuuridel 250°C, 300°C, 350°C, 400°C ja 450°C. Sadestatud ZrO₂ katted sisaldasid erineval määral kaht tsirkoonia kristallilist faasi, milleks olid monokliinne ja tetragonaalne faas. Kaetud ja katmata katseobjektide bioühilduvust hinnati objektide märguvuse ja sidekoe rakkude kinnitumise, kasvu ja jagunemise järgi. Erinevate katseobjektide korrosioonikindlust testiti elektrokeemiliselt, kasutades selleks lineaarset voltamperomeetriat. Rakukasvatustest selgus, et jagunemisvõimelisi rakke oli enamusel objektidel võrdselt ja piisavalt palju, ainsana paistis rakkude vähesusega silma liivapritsiiga töödeldud ja keemiliselt karestatud Ti-5 pind. Antud prooviobjekti korral oli ka füsioloogilise lahuse märgumiskatses saadud märgumisnurk suurim, s.t. näitas biosobivuse jaoks kõige halvemat märgumist. Nende tulemuste põhjal võiks vastavat objekti teiste objektidega võrreldes klassifitseerida kui organismiga bioloogiliselt halvemini ühilduvaks pinnaks. Lineaarse voltamperomeetria katsed näitasid, et aatomkihtsadestatud tsirkoonia kilede korrosioonikindlus sõltub oluliselt sadestustemperatuurist ning parima vastupidavuse saab, kui kasutada temperatuure 250°C või 300°C.

Märksõnad: ALD, ZrO₂, Tsirkoonia, Fibroblast, Biomaterjal, Elektrokeemia, Korrosioonikaitse, Õhukesed kaitsvad katted, Hambaimplantaat.

CERCS kood ja nimetus: **T150** – Materjalitehnoloogia; **T155** – Pinnad ja pinnatehnoloogia; **T115** – Meditsiinitehnika; **P250** – Tahke aine: struktuur, termilised ja mehhaanilised omadused, kristallograafia, faasitasakaal; **P352** – Pinna ja piirpindade keemia; **P401** – Elektrokeemia.

Atomic layer deposited zirconium dioxide based functional coatings for medical grade titanium

In this work, the possibilities of enhancing the corrosion resistance and biocompatibility of medical titanium by utilizing mechanical and chemical pretreatments and ZrO₂ coatings that were synthesized by atomic layer deposition (ALD) was studied. Substrates that were previously roughened by sandblasting, were treated chemically in NaOH/H₂O₂ and HCl solutions. Atomic layer deposition of ZrO₂ coatings from ZrCl₄ and water (H₂O) precursors was carried through at 250°C, 300°C, 350°C, 400°C and 450°C. The coatings exhibited mix of monoclinic and tetragonal phases. Epithelial cell attachment, growth and proliferation were assessed as well as wettability and corrosion behavior of the test objects. Cell culture tests revealed that all surfaces were biocompatible. However, one substrate, sandblasted and chemically modified Ti-5 surface stood out as it was covered with fewer cells. The same substrate was also most hydrophobic, having the highest contact angle. Corrosion tests that were carried out by linear sweep voltammetry showed that the corrosion resistance of the synthesized films depends on deposition temperature. The best corrosion resistance was observed in the case of the films synthesized at 250°C and 300°C.

Keywords: ALD, ZrO₂, Zirconia, Fibroblast, Biomaterial, Corrosion protection, Thin film, Dental implant.

CERCS codes and names: **T150** – Material technology; **T155** – Coatings and surface treatment; **T115** – Medical technology; **P250** – Condensed matter: structure, thermal and mechanical properties, crystallography, phase equilibrium; **P352** – Surface and boundary layer chemistry; **P401** – Electrochemistry.

SISUKORD

INFOLEHT	2
SISUKORD.....	4
KASUTATUD LÜHENDID (ESINEMISE JÄRJEKORRAS)	5
SISSEJUHATUS	6
1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE	8
1.1. MEDITSINILINE TITAAN	8
1.2. BIOÜHILDUVUS.....	8
1.2.1. Bioühilduvuse näitajad.....	9
1.2.2. Meditsiiniline kraad 5 titaan bioühilduva materjalina.....	10
1.2.3. ZrO ₂ ehk tsirkoonia bioühilduva materjalina.....	10
1.3. AATOMKIHTSADESTUS EHK ALD.....	12
1.3.1. ALD meetodi põhimõte.....	12
1.3.2. Bioühilduvad aatomkihtsade statud katted.....	13
1.4. SKANEERIV ELEKTRONMIKROSKOopia EHK SEM.....	14
1.4.1. Skaneeriva elektronmikroskoobi tööpõhimõte	14
1.4.2. Tüüpilised signaalid SEM-is ja nende detekteerimine	15
1.4.3. Nõuded SEM-iga uuritavatele katseobjektile	17
1.5. RÖNTGENERGASTUSEGA MATERJALIDE KARAKTERISEERIMISE MEETODID	17
1.5.1. Röntgenfluorestsents spektroskoopia ehk XRF.....	18
1.5.2. Röntgendifraktsioon-analüüs ehk XRD	19
1.5.3. Röntgenpegeldus-analüüs ehk XRR	20
1.6. PINNAKATETE TESTIMINE ELEKTROKEEMILISTE MEETODITEGA.....	21
1.7. PROBLEEMIPÜSTITUS.....	23
2. EKSPERIMENTAALNE OSA	24
2.1. TITAANI EELTÖÖTLUS.....	24
2.2. AATOMKIHTSADESTUS.....	25
2.3. PINDADE KARAKTERISEERIMINE.....	26
2.3.1. Katseobjektide hüdrofiilsuse määramine.....	26
2.3.2. Katseobjektide pindade topograafia, koostise ja struktuuri määramine.....	26
2.3.3. Katseobjektide ja pinnakatete elektrokeemiline testimine	26
2.4. KATSED BIOÜHILDUVUSE HINDAMISEKS RAKUKASVATUSTE ABIL	27
3. TULEMUSED JA ANALÜÜS	29
3.1. MATERJALI, PINDADE JA ALD MEETODIL VALMISTATUD KATETE KARAKTERISEERIMINE	29
3.1.1. Tulemused.....	29
3.1.2. Tulemuste analüüs	31
3.2. ELEKTROKEEMILISED KORROSIONITESTID.....	34
3.2.1. Tulemused.....	34
3.2.2. Analüüs.....	35
3.3. KATSEOBJEKTIDE BIOÜHILDUVUS.....	37
3.3.1. Tulemused.....	37
3.3.2. Analüüs.....	38
4. KOKKUVÕTE	41
5. VIITED	43
6. LISA	49
LIHTLITSENTS LÕPUTÖÖ REPRODUTSEERIMISEKS.....	51

Kasutatud lühendid (esinemise järjekorras)

ZrO₂ – tsirkooniumdioksiid, tsirkoonia;

Ti6Al4V – titaansulam klass V (5);

Ti-1 – Ti-5 – titaanisulamid klass 1 – 5;

ALD – aatomkihtsadestus (ingl. k. Atomic layer deposition);

SEM – skaneeriv elektronmikroskoopia (ingl. k. Scanning electron microscopy);

EDXS – enrgiadispersiivne röntgenspektromeeter (ingl. k. Energy dispersive X-ray spectrometry);

XRF – röntgenfluorestsents spektrosmeetria (ingl. k. X-ray fluorescence spectrometry);

XRD – röntgendifraktsioon (ingl. k. X-ray diffraction);

XRR – röntgenpeegeldus (ingl. k. X-ray reflectivity);

FIB – fokuseeritud ioonkiir (ingl. k. Focused ion beam);

PBS – fosfaatpuhverdatud soolalahus (ingl. k. Phosphate buffered saline solution);

SCE – küllastatud kalomelelektrood (ingl. k. Saturated calomel electrode);

SB – liivapritsitöötlus (ingl. k. Sandblasting);

SBCE – liivapritsi- ja keemilise söövituse töötlus (ingl. k. Sandblasting and acid etching);

Sissejuhatus

Implantoloogia on üks levinumaid meetodeid, mida kasutatakse kahjustada saanud kudede ja kehaosade funktsionaalsuse ning esteetilise välimuse taastamiseks [1]. Sõltuvalt implantaadi otstarbest ja kasutuspiirkonnast valitakse sobiv materjal vajaliku funktsiooni täitmiseks, kuid sõltumata nendest tingimustest on iga implantaadi puhul oluline, et organism selle vastu võtaks ja ei tekiks tagasilükkereaktsiooni [2–4]. Näiteks on hambaimplantaatide puhul peamine eesmärk asendada puuduv/haige hammas, parandades sellega patsiendi elukvaliteeti. Seetõttu on hambaimplantaatide puhul väga olulisteks omadusteks võimalikult pikk kasutusperiood, ühildumine inimorganismiga, korrosiooni- ja kulumiskindlus ning esteetiline välimus [5].

Hambaimplantaatide geomeetria uurimises ning täiustamises on jõutud selgele arusaamale, et implantaadi pikkus, kuju, diameeter ja ühenduskoht proteesiosaga mängivad kõik rolli implantaadi üldises sobivuses organismiga [6]. Nendest omadustest sõltub implantaadi inimorganismi sisestamise lihtsus ja kompaktsus ning sellest tulenevalt ka hambaimplantaadile mõjuma hakkavad staatiline ja dünaamiline pingeline [7]. Implantaadi stabiilsus luukoes sõltub lisaks hambakruvi geomeetria ka luutüübist, hambaimplantaati ümbritseva luu kogusest ja kvaliteedist ning kirurgilisest sisestusmeetodist [7]. Selleks, et tagada implantaadi bioühilduvus inimorganismiga, tuleb kasutada sobivaid biomaterjale, mis hambaimplantaatide korral on reeglina titaan ja selle sulamid või ütriumiga stabiliseeritud tsirkooniumdioksiid [1, 8–10]. Tänu meditsiinilise titaani pinnal olevale keemiliselt vastupidavale titaandioksiidile on titaanist valmistatud hambaimplantaadid bioinertsed ning suurepärase mehaaniliste omadustega [11]. Sellegipoolest võib esineda integratsiooniraskusi. Nimelt ei võimalda puudulik bioaktiivsus piisavat kiiret operatsioonijärgset paranemist ja luukoe taastumist [1], kuid samuti võib teatud meditsiiniliste titaanisulamite puhul pika aja vältel esineda toksiliste ionide eraldumist [12]. Lisaks sellele võivad suus oleva happelise keskkonna tõttu tingitud korrosiooni ja tsüklilise koormuse (närimise) koosmõju viia implantaadi purunemiseni [13]. Ütriumiga stabiliseeritud tsirkooniumoksiidil põhinevad implantaadid on see-eest väga korrosioonikindlad ja hea esteetilise välimusega (valged), kuid nende põhiliseks puuduseks on purunemine tsüklilise koormuse toimet [14]. Seetõttu on läbi viidud mitmeid uuringuid, milles on püütud meditsiinilisest titaanist valmistatud ortopeedilisi- ja hambaimplantaate kõrgtehnoloogiliste üliõhukeste (alla 100 nm paksuste) katete abil paremaks teha [8, 15–19]. ALD meetodil on valmistatud hübriidseid nanostruktuurseid katteid meditsiinilise titaani pinnale ZnO ja süsiniknanotorude abil, saades nii pinnad, mis on

antibakteriaalse toimega, reguleerivad rakkude proliferatsiooni ja parandavad implantaadi rakkudega ühildumist [16]. Teises töös saadi hüdrotermilisel töötlemise ja vurrkatmise (ingl. k. *spin-coating*) meetodil pindade katmisel hõbeda nanoosakeste ja polülaktiid-polüglükoliid (PLGA) kopolümeeri hübriidiga pinnad, mis näitasid väga häid antibakteriaalseid omadusi ja head ühildumist rakkudega [17]. Magnetron-tolmustamise meetodil saadud tsingiga dopeeritud $\text{ZrO}_2/\text{TiO}_2$ poorsed katted näitasid samuti suurepäraseid antibakteriaalseid omadusi, head rakkudega ühilduvust ning märkimisväärset korrosioonile vastupanu tõusu füsioloogilises lahuses, tõestades seega head sobivust biokattena kasutamisel [8].

Käesolevas töös uuritakse võimalust parandada mehaaniliselt ja keemiliselt karestatud meditsiinilise titaani bioühilduvust ja korrosioonikindlust aatomkihtsadestatud ZrO_2 katete abil.

1. Kirjanduse ülevaade

1.1. Meditsiiniline titaan

Metallidest kasutatakse kunstlike ortopeediliste- ja hambaimplantaatide valmistamiseks enim titaani ja selle sulameid, seda tänu nende materjalide headele mehaanilistele omadustele, bioühilduvusele ja suurepärasele kliinilisele toimimisele [8].

Meditsiinilise titaanina tuntakse erinevaid titaanisulameid, millest levinumate koostis on toodud Tabel 1-s. Hambaimplantaatide puhul kasutatakse enamasti Ti-5 (klass V (5) titaan) α - β sulamit, mis sisaldab kuni 4,5% vanaadiumit ja 6,5 % alumiiniumit (Tabel 1). Võrreldes teiste meditsiiniliste titaani sulamitega annavad need lisandid sulamile Ti-5 oluliselt paremad mehaanilised omadused, suurendades sulami tõmbetugevust ja kõvadust [12].

Tabel 1. Hambaimplantaatide valmistamiseks kasutatavate titaanisulamite omadused [20-21].

Sulam	Koostis (maksimaalne m%)								Meh. omadused		
	Ti	Al	V	O	Fe	C	N	H	Tõmbe- tugevus (MPa)	Elastsus- piir (MPa)	Kõvadus (Brinell)
Ti-1	99,5	-	-	0,18	0,20	0,08	0,03	0,015	240	170	120
Ti-2	99,2	-	-	0,25	0,30	0,08	0,03	0,015	345	275	160
Ti-3	99,1	-	-	0,35	0,30	0,08	0,05	0,015	450	380	200
Ti-4	99	-	-	0,40	0,50	0,08	0,05	0,015	550	483	250
Ti-5	90	5,5- 6,5	3,5- 4,5	0,13	0,25	0,08	0,05	0,012	860	795	334

1.2. Bioühilduvus

Bioühilduvus kirjeldab materjali kokkusobivust elusorganismiga, kuhu see sisse viiakse [22]. Üheks olulisemaks bioühilduvuse kriteeriumiks on ohutus organismi või koe toimimisele, mis tähendab, et kasutatavad materjalid ei tohi kutsuda esile koeärritusi, põletikke ega väljatõukereaktsioone [3-4]. Bioühilduvaid materjale liigitatakse seejuures bioinertseteks (materjalid on bioühilduvad, kuid ei interakteeru bioloogiliste komponentidega organismis, mistõttu nad kaetakse seal fibroosse koega [23]) ja bioaktiivseteks (materjalid, mis on võimelised ümbritsevate kudede ühilduma ilma fibroosse koe moodustumiseta [24]). See

tähendab, et organismi viidavad implantaadid ja kunstmaterjalid võivad reageerida ümbritsevate kudedega erineval viisil ja seetõttu tuleb iga rakenduse jaoks valida sobivaim bioühilduv materjal, mis on vastavalt vajadusele bioinertne (näiteks ütriumiga stabiliseeritud tsirkoonia [25]) või bioaktiivne (näiteks bioaktiivne klaas, naatriumi ja kaltsiumi sisaldusega fosfor-silikaat [26]).

1.2.1. Bioühilduvuse näitajad

Hambaimplantaatide bioühilduvust hinnatakse materjali erinevate omaduste järgi, milleks on näiteks mikrotopograafia, pinnaenergia, karedus ja vastupidavus korrosioonile. Pinna mikrotopograafiliste omaduste seos rakkude käitumisega on kinnitatud ja publitseeritud uuringu tulemusest on teada, et mikrotopograafiast sõltub molekulide adsorbeerumine ning rakkude kinnitumine ja asetumine pinnale [27]. Osteoblastid eelistavad kinnituda karedamatele pindadele, seevastu epiteelkoe rakud ja fibroblastid kinnituvad meelsasti ka siledatele pindadele [28-29]. Nanotopograafiliste pinnavormide olemasolu soodustab rakkude kinnitumist, proliferatsiooni ehk jagunemisvõimelisust ja jaotumist ning rohkemate erinevate rakkude kinnitumist, ning võimaldab rakulist diferentseerumist (ehk diferentseerumata rakutüüpide muutumist teistsuguse morfoloogia ja/või funktsioonidega rakkudeks) [30].

Bioühilduvus on seotud pinna topograafia, pinnaenergia ja karedusega. Topograafiast ning pinnaenergiast (ja seega karedusest) sõltub ka pinna märguvus, millel on samuti seos rakkude kasvamisele ja käitumisele. Karedus mõjutab enim diferentseerumist ja proliferatsiooni, märguvus mõjutab valkude adsorptsiooni ja seega rakkude adhesiooni pinnale [31]. Pinna topograafia olulisust bioühilduvuse soodustajana on palju uuritud ja mikrokaredad implantaadipinnad on kujunenud omaette standardiks – suurem osa praegusel ajal kasutatavatest implantaatidest karestatakse liivapritsiiga [32]. Tihti sellisest karedusest ei piisa ja lisa karestamine keemilise söövituse näol on näidanud positiivseid tulemusi rakkude kinnitumise ja proliferatsiooni edendajatena nii titaanist kui ka ZrO_2 -st valmistatud pindadel [32]. Keemilise söövituse eeliseks on asjaolu, et sellega saab söövitada mistahes suuruse ja kujuga objekte (piiravaks jääb vaid anuma suurus, kus söövitamist teostatakse), söövitusel ei kasutata mehaanilist jõudu ega pinget, ning söövituse tulemusena saadakse suhteliselt homogeensed pinnad. Söövituse aste sõltub kasutatavast kemikaalist, töötlemise temperatuurist ja ajalisest kestusest.

Korrosiooni on defineeritud kui materjali häviminemist (või omaduste halvenemist) keskkonnamõjude toimet [33]. Implantaatide puhul on selleks keskkonnaks inimorganism, mis võib põhjustada lisaks implantaadimaterjalide mehaaniliste omaduste halvenemisele ka põletikke ja probleeme bioühilduvusega [34]. Viimane on sageli seotud just implantaadimaterjali ühe või mitme komponendi eraldumisega pikema aja vältel ja imbumist organismi, mis võib viia allergiani ja väljatõukereaktsioonideni [34].

1.2.2. Meditsiiniline kraad 5 titaan bioühilduva materjalina

Töötlemata titaanisulami pind on bioinertne õhukeskkonnas selle pinnale tekkiva õhukese ja passiveeriva oksiidikihi tõttu [9, 35]. See oksiidikiht takistab objekti korrodeerumist, kuid takistab ka enamuste bioloogiliselt aktiivsete orgaaniliste molekulide (ehk biomolekulide) kinnitumist objekti pinnale [9, 35].

Vaatamata kraad 5 titaani väga headele tugevusomadustele, materjali töödeldavusele ja vormitavusele, luukoele sarnasele tihedusele ja bioühilduvusele, võib ka sellest materjalist implantaadi kehasse viimine tekitada probleeme. Nimelt hakkavad Ti-5 pikaajalisel kasutamisel sulamist eralduma Ti-, Al- ja V- ioonid, millest Ti põhjustab igemete värvumist halliks [23] ning toksilised Al ja V võivad viia igemete ja lõualuu taandumiseni [24]. Kui implantaadi ümbert on hakanud kude juba taanduma, siis puutub implantaat kokku ka suukeskkonnaga, kus korrosiooni hakkavad mõjutama ka teised tegurid; sülje kogus, selle pH, proteiinide sisaldus, lisaks temperatuur, hambakatt, tarbitava toidu ja joogi keemilised ja füüsilised omadused (samuti happelisus ja aluselisus, toidu tekstuur, jne) ning kindlasti ka suuhügieen [1].

Meditsiinilise titaani bioühilduvuse parandamiseks on kasutusel mitmeid meetodeid, milleks levinuimateks on pinna karestamine liivapritsiga, töötlemine laseriga, keemiline söövitamine, anodeerimine või plasma-sadestusega (ingl. k. *plasma spray*) katmine [34].

1.2.3. ZrO₂ ehk tsirkoonia bioühilduva materjalina

Keraamilistest biomaterjalidest on tsirkoonia üks parimate mehaaniliste omadustega materjalidest [36]. Selle materjali kolm levinumat kristallilist vormi on monokliinne, tetragonaalne ja kuubiline faas. Samuti võib materjal esineda ka polümorfseks, mille korral on

esindatud korraga mitu erinevat kristallilist faasi. Tsirkooniumdioksiid võeti ortopeedilise implantaadimaterjalina kasutusele tema võrdlemisi suure murdumiskindluse, keemilise stabiilsuse ja mehaanilise tugevuse tõttu. Käesoleva keraamilise materjali erakordselt suur murdumiskindlus on tingitud lisapinge rakendamisel esinevast faasiüleminekust metastabiilsest tetragonaalsest faasist stabiilsemasse monokliinsesse faasi [14]. Tetragonaalne ja kuubiline faas on mehaaniliste omaduste poolest monokliisest eelistatumad, kuid võivad teatud tingimustel degradeeruda (tetragonaalne faas kõrgetemperatuursete protsesside käigus [37], tetragonaalne ja kuubiline faas degradeeruvad ka ajaga, toimub transformatsioon monokliinsesse faasi [38]) ning see vähendab nende faaside tugevust. Monokliinne faas on toatemperatuuridel stabiilsem [39] ja juba mainitult ka vastupidavam murdumistele.

Tsirkooniast valmistatud implantaatide suureks eeliseks titaanist implantaatide ees on eelkõige valge esteetiline välimus, kuid ka parem bioühilduvus, võimaldades oma pinnal suurema koguse biokile tekkimist ja kinnitumist [40]. Esteetilisele väärtusele rõhutakse enim just hammaste implantoloogias, kus ajapikku võivad implantaati ümbritsevad koed metalliioonide tõttu sinakaks või hallikaks muutuda [9]. Samuti võivad kruviimplantaadid erinevatel põhjustel igemete taandumisel paljanduda [41-42]. Paljude uuringute tulemusena on tehtud järeldusi, et ZrO_2 implantaadid on kindlasti võrdväärased titaanist implantaatidega, seejuures mõned omadused on isegi paremad: afiinsus luukoega, nukleatsioonitsentrite olemasolu hüdroksüapatiidi kristallide moodustumiseks, mitte-kartsinogeensed omadused [36]. Lisaks ZrO_2 üldisele bioaktiivsele toimele organismi paigutamisel on leitud ka, et tetragonaalse või monokliinse struktuuriga ZrO_2 pinnale moodustub hüdroksüapatiit simuleeritud kehavedelikku asetamisel paremini kui amorfse struktuuriga ZrO_2 pinna korral [39]. Sellest võib eeldada, et materjali faasikoostisel ja mikrostruktuuril on seos bioaktiivsuse erinevate tasemetega. Ühtlasi võib eeldada, et erinevatel meetoditel valmistatud ZrO_2 katted on samuti aluseks materjali bioaktiivsusele [39].

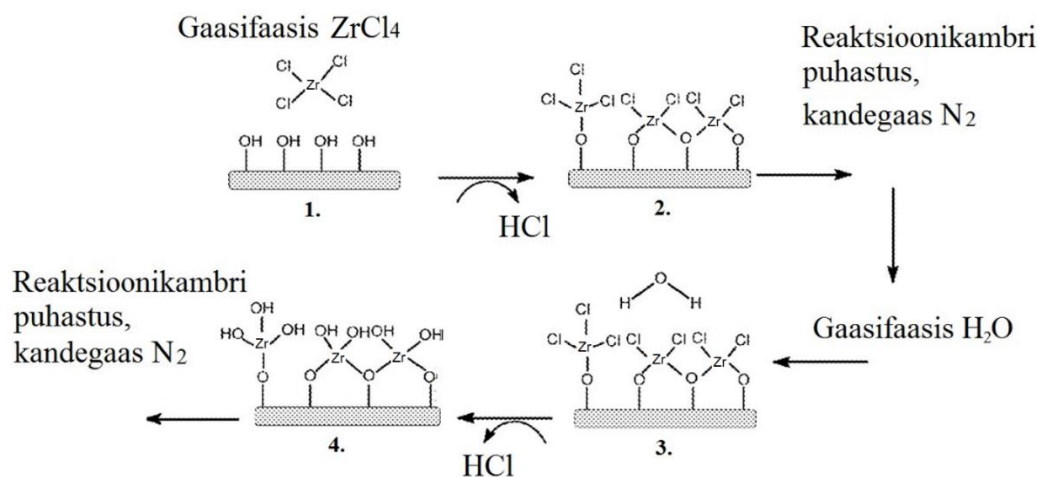
Tsirkoonial põhinevate implantaatide üheks tõsisemaks probleemiks peetakse veekeskkonnas degradeerumist: vesikeskkond soodustab tetragonaalsest faasist monokliinsesse faasi üleminekut, mis viib omakorda implantaadi pragunemise ja murdumiseni [32].

1.3. Aatomkihtsadestus ehk ALD

Aatomkihtsadestus on meetod õhukeste tahkisekilede valmistamiseks, mis põhineb vahelduvatel iseküllastuvatel keemilistel reaktsioonidel [43]. Kuna aatomkihtsadestusega on võimalik sünteesida sobiva koostise, struktuuri ja paksusega materjalikihte ka keeruka kolmemõõtmelise kujuga aluspindadele, siis on see meetod leidnud rakendust nii mikroelektroonikatööstuses (kondensaatorite ja transistoride komponendid), kui ka erinevate funktsionaalsete katematerjalide valmistamisel [44-46].

1.3.1. ALD meetodi põhimõte

Ajalooliselt on aatomkihtsadestus tuntud keemilise aurufaassadestuse alaliigina, kus protsess viiakse läbi spetsiaalses reaktoris, kasutades selleks gaasilisi lähteaineid. Tahkisekilede sadestamine gaasilistest omavahel reageerivatest lähteainetest toimub sageli madalal rõhul, võimaldades nii väga head kontrolli sünteesitava materjali paksuse ja koostise ning struktuuri üle. Nagu on võimalik näha allolevalt jooniselt (Joonis 1), kantakse kasvualusele pinnale lähteaineid vaheldumisi, kus üks lähteaine reageerib kasvualuse pinnaga kuni küllastumiseni. Seejärel viiakse reaktsioonikambrisse teine lähteaine, mis reageerib eelmise kihiga kuni küllastumiseni. Lähteainete pulsside vahel eemaldatakse üleliigsed lähteained ning gaasilised reaktsiooni kaasproduktid (nt. HCl) inertse gaasiga (nt. N₂). Sama kordumismustri järgi esinevaid lähteainete pulsside kogumikke nimetatakse tsükliteks. Aatomkihtsadestamise meetodil kasvatatakse pinnakatet tsüklite kaupa. Tsükleid korratakse omakorda nii palju, et saavutatakse soovitud katete paksus. Sadestunud materjalikihi paksus sõltub lisaks tsüklite arvule ka kasvualuse pinna ja lähteaine reaktiivsusest vastava rõhu ja temperatuuri juures. Lähteainete kogused sõltuvad kasvualusest pinnast ja pindalast. Seejuures on madalamatel temperatuuridel sadestatud kiled reeglina amorfsed ning kõrgematel temperatuuridel tehtud kiled kristallilised [15]. Kindla kristallstruktuuri saamine võib samas olla võimalik vaid kindlas temperatuuride vahemikus.



Joonis 1. Aatomkihtsadestuse protsessis ühe kasvutsükli käik kahe lähteaine korral. ZrO_2 kile aatomkihtsadestamise põhimõtteline skeem, kus lähteainetena on kasutusel ZrCl_4 ja H_2O .

Aatomkihtsadestust teostatakse erineva ehitusega reaktorites, mis peavad võimaldama sadestusprotsesside läbiviimist normaalarõhust madalamatel rõhkudel. Näiteks võib sadestamiseks kasutada gaasi läbivoolureaktorit, kus lähteaineid suunatakse kasvukambris ühest otsast kandegaasiga. Lähteained, mis ei seostu kasvualusega ning gaasilised reaktsiooni kaasproduktid, eemaldatakse reaktsioonikambrist vaakumpumba abil. Aatomkihtsadestuse reaktori põhilised osad on kandegaasi (nt. N_2) allikas, lähteainete allikad (nt. ZrCl_4 ja H_2O) (lähteaineid on võimalik ühendada gaasifaasis, vedelikuna või tahkisena), reaktsioonikamber, gaasivoogude kiirust ja rõhku kontrollida võimaldav aparatuur, lähteainete ja reaktsioonikambri temperatuuri reguleeriv ja kontrolliv süsteem ning vaakumpump.

1.3.2. Bioühilduvad aatomkihtsadestatud katted

Kuna aatomkihtsadestamise meetodil on võimalik valmistada ka bioühilduvaid materjale, siis on viimastel aastakümnetel uuritud üliõhukeste funktsionaalsete katete valmistamise võimalust erinevatest materjalidest implantaatidele [46]. F. Bilo jt. [47] näitasid enda uuringutes, et lisaks implantaatide pindade organismile vastuvõetavamaks tegemisele suudab teatud paksusega aatomkihtsadestuse meetodil valmistatud kate takistada erinevate implantaadisulami metalliioonide difusiooni organismi ja ümbritsevasse kudedesse.

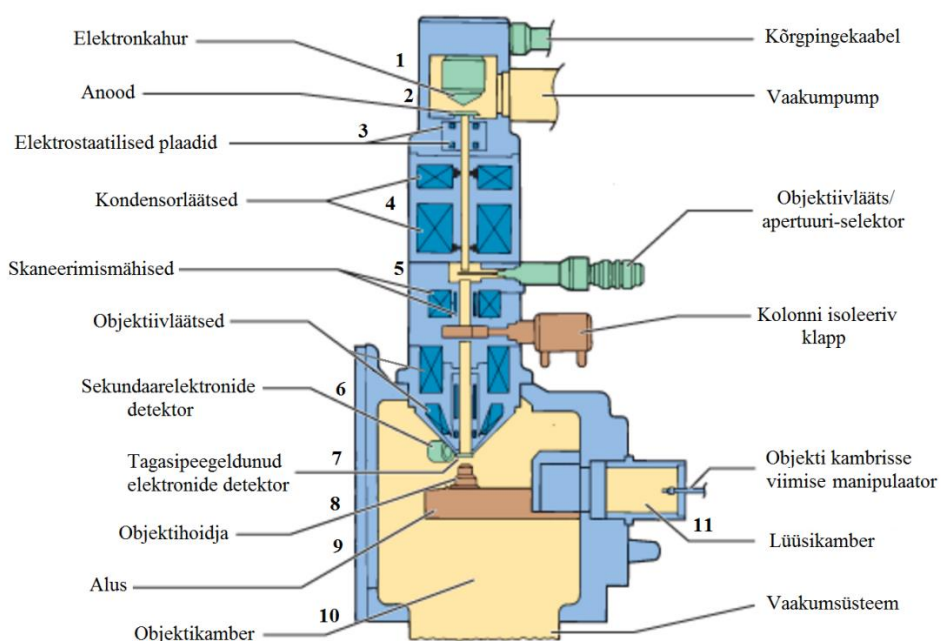
ALD meetodil valmistatud bioühilduvatest katematerjalidest on siiani uuritud TiO_2 ja TiO_xN_y (titaan oksünitriid), Al_2O_3 ja Ca-P-O (kaltsiumfosfaat mineraalid, sh hüdroksüapatiit $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, on luukoe mineraalseks koostiseks ja selle materjaliga kaetakse suurem osa ortopeedilisi ning hambaimplantaate) kilesid [19, 48]. ZrO_2 on biomaterjalina uuritud ja kasutusel [31], kuid ALD meetodil valmistatud ZrO_2 katted pole implantaatide funktsionaliseerimisel kirjanduse põhjal uuritud.

1.4. Skaneeriv elektronmikroskoopia ehk SEM

Skaneeriv elektronmikroskoop (SEM) on üks elektronmikroskoopide alaliik, kus katseobjekti pinda skaneeritakse fokuseeritud elektronkiirega ning detekteeritakse tekkinud signaale. Selle meetodiga on võimalik saada informatsiooni uuritava pinna topograafia, koostise, elementide jaotuse, juhtivuse ja teiste omaduste kohta.

1.4.1. Skaneeriva elektronmikroskoobi tööpõhimõte

Skaneeriva elektronmikroskoobi üheks olulisemaks komponendiks on elektronkahur, kus elektronide allikaks on filament e. termoemissioonkatood (Joonis 2, koht 1).



Joonis 2. Skaneeriva elektronmikroskoobi põhimõtteline skeem.

Sageli on selleks volframtraat, mida kuumutatakse elektrivooluga kõrgele temperatuurile ($\sim 2400^{\circ}\text{C}$), mille tulemusena eralduvad filamendist termoemissiooni tõttu vabad elektronid, mis hajuvad ruumi kõigis suundades. Elektronkahuri all asetseb anood, millele seadme operaator rakendab anoodse pinge (reeglina 0,1-30 keV) ja mille tulemusena kiirendatakse elektronid anoodi poole (Joonis 2, koht 2). Anoodi all asetsevate mähiste või elektrostaatiliste plaatide (Joonis 2, koht 3) abil nihutatakse kiirendatud elektronide voogu nii, et see jõuaks kondensorläätsede süsteemi (Joonis 2, koht 4). Kondensorläätsede-süsteemis toimub elektronkiire fokuseerimine ning samuti reguleeritakse sellega katseobjektini jõudvate elektronide hulka ehk sondi voolu. Läätsede süsteemis toimub elektronkiire fokuseerimine mähistes voolutugevuse muutmisega. Kondensorläätsede süsteemi all asetsevad skaneerimismähised (Joonis 2, koht 5), mille põhiliseks funktsiooniks on elektronkiire liigutamine nii, et see skaneeriks reahaaval üle uuritava katseobjekti pinna. Elektronkiire interaktsioonil katseobjekti pinnaga tekkinud signaalid registreeritakse vastavate detektoritega (Joonis 2, kohad 6 ja 7). Katseobjekt on kinnitatud spetsiaalse hoidja (Joonis 2, koht 8) abil töölaua (Joonis 2, koht 9) külge, mis võimaldab objekti liigutada, pöörata ja kallutada. Katseobjekt viiakse proovikambrisse (Joonis 2, koht 10) peaukse või õhulüüsi (Joonis 2, koht 11) kaudu. Uuringud skaneeriva elektronmikroskoobiga viiakse läbi kõrgvaakumis, mis on saavutatud erinevate vaakumpumpade abil.

1.4.2. Tüüpilised signaalid SEM-is ja nende detekteerimine

Kiirendatud elektronide ja uuritava aine interaktsioonil tekib erinevaid signaale, mille detekteerimisel saab informatsiooni materjali topograafia, koostise ja teiste omaduste kohta. Põhilised tekkinud signaalid on tagasipeegeldunud elektronid, sekundaarsed elektronid (sh. Auger'i elektronid) ja karakteristlik röntgenkiirgus (Joonis 3).

1.4.2.1. Sekundaarsed elektronid

Sekundaarelektronid tekivad suure energiaga primaarsete elektronide (elektronkiire) ja uuritava katseobjekti pinna pealmistes kihtides olevate nõrgalt seotud elektronide kokkupuutel, kus suurema energiaga primaarsed elektronid löövad sekundaarelektronid pinnast välja. Seetõttu kasutatakse nende detekteerimiseks süsteemi, esmalt kiirendatakse elektronid positiivselt pingestatud kollektorvõre abil luminofoori pinnale, kus tekkinud valgus juhitakse mööda valgusjuhti elektronkordistisse. Selles võimendatakse signaal, mida kasutatakse arvutis pildi genereerimiseks. Kuna sekundaarsete elektronide energia on väike, siis kannavad nad

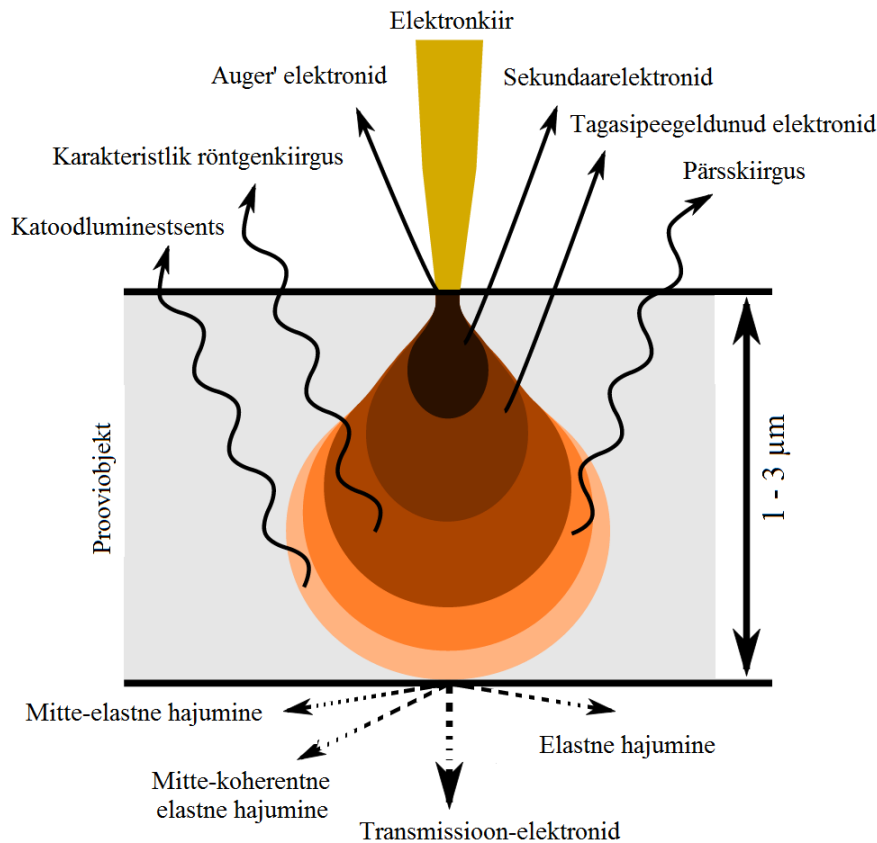
informatsiooni eelkõige pinna topograafia kohta. Sekundaarseid elektrone tekitatakse ka sügavamal materjali sees, kuid sealt väljumiseks ei ole neil piisavalt energiat.

1.4.2.2. Tagasipeegeldunud elektronid

Tagasipeegeldunud elektronid (BSE) on primaarkiire elektronid, mis ilma olulise energiakaota väljuvad katseobjekti pinnast peaaegu primaarkiire suunas. Seetõttu paikneb BSE detektor tavaliselt proovi kohal, elektronkolonni alumise otsa ümber. BSE detektorid võivad põhineda stsintillatsioonil või elektron-auk paaride rekombinatsioonil tekkinud voolu mõõtmisel pingestatud pooljuhis. Erinevalt sekundaarsetest elektronidest võivad tagasipeegeldunud elektronid tulla märksa sügavamatest materjalikihtidest (mõned mikromeetrid). Samuti sõltub nende saagis oluliselt aatominumbrist, mis võimaldab kiiresti uurida elemendilist jaotust mikroskoopilisel alal.

1.4.2.3. Karakteristlik röntgenkiirgus

Proovi kiiritamisel piisavalt kõrget energiat omavate primaarkiire elektronidega on võimalik lüüa välja proovi aatomi sisekihi elektrone, mille tulemusena läheb aatom ergastatud olekusse. Selleks, et aatom saaks relakseeruda (naasta tasakaaluolekusse), siirdub mõni kõrgema elektronikihi elektron tekkinud vakantsi. Sellise siirde tulemusena vabaneb üleliigne energia röntgenkvandina, mille energia on omane konkreetsele aatomile. Seega saab määrata aine elemendilist koostist, kui mõõta elektronide ergastamise tulemusena katseobjekti pinnal tekkinud karakteristliku röntgenkiirguse energiat ja intensiivsust. Seda saab teha näiteks energiadiispersiivse röntgenspektromeetriga (EDXS), mis on ühendatud skaneeriva elektronmikroskoobi külge. Si(Li) detektori puhul tekitab mõõdetav röntgenkiirgus elektron-auk paare, mis eraldatakse elektrivälja abil ning mõõdetakse tekkinud laenguimpulss. Kuna ergastamiseks kasutatakse SEM-i puhul fokuseeritud elektronkiirt, siis on elementanalüüsiks mitmeid võimalusi; saab teostada punktanalüüsi vaid mõne ruutmikromeetri suurusel alal, saab määrata keskmist koostist laiemal alal ning samuti saab määrata elemendilist jaotust, kus lahutusvõime on $\sim 1 \mu\text{m}$.



Joonis 3. Skaneeriva elektronmikroskoobi primaarkiire ja aine vastastikmõju piirkond.

1.4.3. Nõuded SEM-iga uuritavatele katseobjektile

Skaneerimisel on oluline uuritava pinna elektrijuhtivus, mittejuhtivad proovid kaetakse üldjuhul väga õhukese plaatina või kulla kihiga, et objekti uurimine oleks võimalik ning prooviobjektile ei hakkaks kogunema liigset laengut. Samuti peavad katseobjektid olema sobilikud kasutamiseks vaakumis – st. nad peavad olema kuivad ning neist ei tohi uuringute käigus eralduda gaasi, mis rikuks mikroskoobi proovikambris vaakumi taset.

1.5. Röntgenenergastusega materjalide karakteriseerimise meetodid

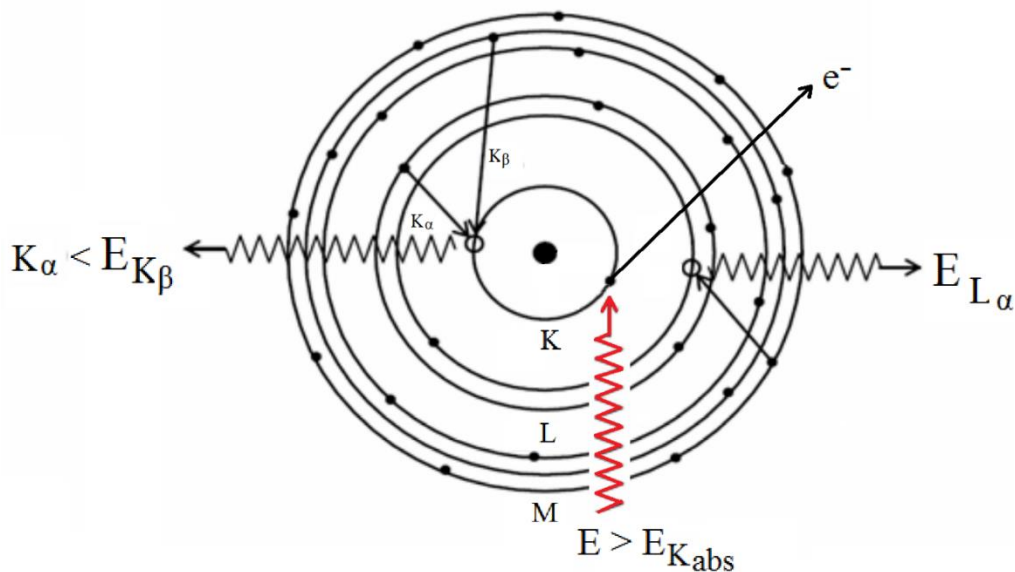
Ergastades uuritavat materjali röntgenkiirgusega on võimalik saada informatsiooni selle koostise, struktuuri, tiheduse, kareduse ja teiste omaduste kohta. Vastavalt huvipakkuvale informatsioonile tuleb seejuures valida sobiv meetod, mis põhineb spetsiifilisel kiirguse interaktsioonil uuritava ainega.

1.5.1. Röntgenfluorestsents spektroskoopia ehk XRF

Röntgenfluorestsents spektroskoopia (XRF) põhineb katseobjekti kiiritamisel primaarse kõrge energiaga elektromagnetkiirgusega (enamasti kasutatakse tänapäeval ergastamiseks röntgenkiirgust) ning tekkinud sekundaarse karakteristikliku röntgenkiirguse mõõtmisel [49] (kiirguse neeldumine ja fluorestsentskiirguse tekkimine on kujutatud Joonisel 4). Seda võrdlemisi mittedestruktiivset meetodit kasutatakse laialdaselt erinevate materjalide (nt. metallide, polümeeride, keraamika, komposiitmaterjalide jms.) elemendilise koostise määramiseks erinevates valdkondades.

1.5.1.1. Spektromeetri ehitus

Katseobjekti ergastamiseks kasutatav röntgenkiirgus tekitatakse röntgentorus, kus katoodilt eralduvad elektronid kiirendatakse kõrge pingega (nt. 20-60 kV) vastu anoodi, mille tulemusena muudetakse osa elektronide energiast röntgenkiirguseks. Tekkinud kiirgus koosneb seejuures kahest komponendist: elektronide aeglustumisest tulenevast pidurduskiirgusest ja anoodi materjali aatomite relakseerumisest tulenevast karakteristiklikust röntgenkiirgusest. Tekkinud röntgenkiirgus väljub röntgentorust Be akna kaudu ja see on suunatud uuritavale objektile. Katseobjekti kiiritamisel röntgentorust tuleva primaarse röntgenkiirgusega lüüakse proovis olevate aatomite sisekihist välja elektrone ning vakantsi täitumisel väliskihi elektroni poolt eraldub üleliigne energia karakteristikliku röntgenkiirgusena, mille energia ja intensiivsuse mõõtmisel saab määrata aine elemendilist koostist. Lainedispersiivse röntgenfluorestsents spektromeetria korral kasutatakse selleks analüsaatorkristalli ja detektorit, mis paiknevad koos prooviga ringjoonel (Rowlandi ring). Osa tekkinud karakteristiklikust röntgenkiirgusest satub analüsaatorkristallile, millelt erineva lainepikkusega kiirgused hajuvad intensiivselt erinevate nurkade alt vastavalt Braggi seadusele (erinevatelt kristalli aatomtasanditelt hajunud kiirguse konstruktiivne interferents kindla lainepikkusega kiirguse korral esineb vaid kindla nurga juures). Braggi seadus: $n\lambda = 2d\sin\Theta$, kus n on täisarv, λ on lainepikkus, d on aatomtasandite vaheline kaugus ning Θ on kiirte langemise- / hajumise nurk. Varieerides kristallile langeva kiirguse langemis- ja peegeldumisnurka, saab skaneerida üle laiema lainepikkuste vahemiku ja seega saada teada, millised elemendid katseobjektis esinevad. Detektorina kasutatakse kinnist ja/või läbivooluga gaasitoru, mille sees on positiivselt pingestatud traat. Röntgenkiirguse sattumisel detektorisse toimub gaasi ioniseerimine ning vabanenud elektronid tõmmatakse traadile, mille tulemusena tekib laengu impulss, mida saab mõõta.



Joonis 4. Röntgenkiirguse neeldumine ja fluorestsentskiirguse emissioon.

1.5.2. Röntgendifraktsioon-analüüs ehk XRD

Röntgendifraktsioon-analüüs on uuringumeetod, mis põhineb röntgenkiirguse hajumisel kristallilise aine aatomtasanditelt, tulemuste interpreteerimine käib vastavalt Braggi seadusele [50]. Hajunud röntgenkiirguse detekteerimisega on võimalik saada informatsiooni ainete faasilise koostise ning võreparameetrite kohta.

Röntgendifraktsioon-analüüsi korral kiiritatakse uuritavat katseobjekti röntgenkiirguse allika ja monokromaatori abiga saadud monokromaatse röntgenkiirgusega. Röntgenkiirguse langemisel kristallilisele katseobjektidele hajub osa sellest kiirgusest erinevatelt aatomtasanditelt nurga alt, mis on võrdne pealelangemisnurgaga. Erinevatelt aatomtasanditelt hajunud röntgenkiirgus läbib erineva optilise teepikkuse ja sellest tulenevalt võib hajunud kiirguse korral esineda nii konstruktiivne- kui ka destruktiivne interferents, mis on otseselt sõltuvuses pealelangemis- ja hajumisnurgast. Juhul, kui aatomtasanditelt hajunud röntgenkiirgus ei ole samas faasis, siis on tegu destruktiivse intereferentsiga. Kui lainete maksimumid kattuvad, siis on tegu konstruktiivse interferentsiga. Konstruktiivne interferents saab tekkida vaid siis, kui erinevatelt tasanditelt hajunud kiirguse optilise teepikkuse vahe on täisarv kordne ergastava kiirguse lainepikkusest. Seda kirjeldabki Braggi seadus $n\lambda = 2d\sin\theta$, kus n on täisarv, λ on lainepikkus, d on aatomtasandite vaheline kaugus ning θ on kiirte langemise-/ hajumise nurk. Röntgendifraktsioon-analüüsi korral on tegu monokromaatse

ergastava kiirgusega ehk see on teadaolev konstantne suurus. Seega saab leida uuritavale ainele iseloomulikud aatomtasandite vahelised kaugused, kui skaneerida läbi pealelangemise-/hajumise nurkade vahemik, muutes detektori ja kiirgusallika asukohta. Kui teatud nurga juures esineb konstruktiivne interferents, siis saabki kasutada Braggi valemit, et leida aatomtasandite vaheline kaugus ning andmebaaside abil ainete faasiline koostis ja võreparameetrid.

1.5.3. Röntgenpeegeldus-analüüs ehk XRR

Röntgenpeegeldus on pinnatundlik röntgenkiirguse hajumise meetod, millega saab mõõta õhukese materjalikihi paksust, tihedust ning karedust. Meetodi põhimõte seisneb röntgenkiirguse peegeldumisel lamedalt, eeldatavalt siledalt pinnalt ja seejärel peegeldunud röntgenkiirguse intensiivsuse mõõtmisel konkreetses suunas, eeldusel, et peegeldumisnurk on võrdne langemisnurgaga. Kui kokkupuutepind ei ole sile ja ühtlane, siis peegeldunud intensiivsus kaldub kõrvale Fresneli peegeldumisseaduse eeldustest. Nende kõrvalekallete abil on võimalik analüüsida pinna(kihi) tihedusprofili. Meetodi abil saab analüüsida kilesid või materjale paksusega kuni 1000 nm, analüüsida on võimalik nii ühekihilisi, kahekihilisi kui ka mitmekihilisi süsteeme. Röntgenkiirgus langeb analüüsis pinnale ja peegeldub selle pinna mõlemalt piirpinnalt, kus peegeldumisseadusest lähtuvalt on peegeldumisnurk võrdne primaarkiire langemisnurgaga.

Kile või õhukese kihi tiheduse määramiseks peab röntgenkiirgus peegelduma proovi pinnalt täielikule välispeegeldusele lähedastes tingimustes ja seega viiakse peegeldumise mõõtmise läbi väikeste nurkade all. Teatud kriitilise nurga väärtuse ületamise korral tungib primaarkiir uuritavasse ainesse rohkem kui tarvis, mistõttu on peegelduva röntgenkiirguse osahulk liiga väike analüüsi võimalikkuseks. Kile või õhukese kihi paksust näitab interferentsimaksimumide arv ja järk, lisaks on analüüsis vajalik teada seoseid eri kihtides levivate lainete lainearvude vahel.

1.6. Pinnakatete testimine elektrokeemiliste meetoditega

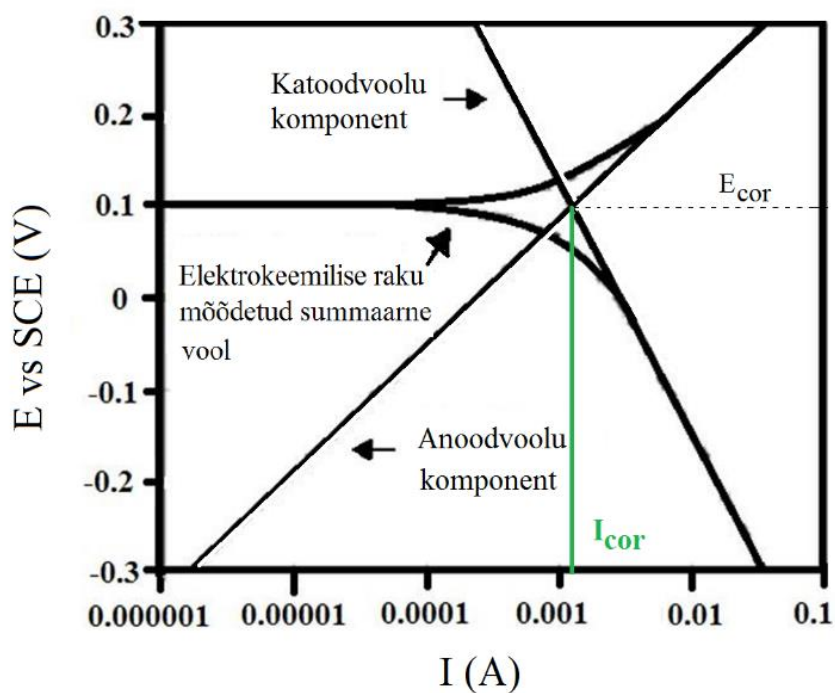
Kuna implantaadimaterjalid peavad lisaks bioühilduvusele olema ka vastupidavad korrosioonile, siis kasutatakse korrosioonikindluse testimiseks sageli elektrokeemilisi meetodeid.

Elektrokeemilised mõõtmised teostatakse sobiva elektrolüüdilahusega täidetud inertsest materjalist mõõterakus, mille sisse on viidud tööelektrood (uuritav objekt), stabiilse ja kindla potentsiaaliga võrdluselektrood (nt. küllastatud kalomelelektrood) ja vooluringi toimimise tagamiseks ka vastaselektrood (nt. Pt-traat). Elektroodid on ühendatud potentsiostaadi külge ja mõõtmiste läbiviimiseks kasutatakse spetsiaalset arvutitarkvara.

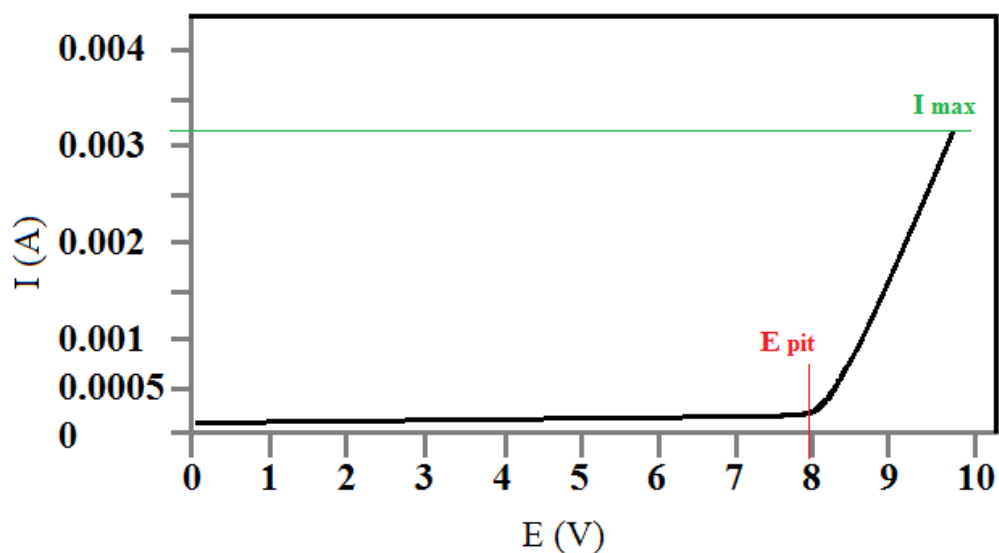
Üheks levinumaks elektrokeemiliseks meetodiks korrosiooni uurimisel on lineaarne voltamperomeetria. Selle meetodi korral muudetakse objektile ehk tööelektroodile (kindla pindalaga) rakendatud elektrilist pinget (ehk potentsiaali) ja mõõdetakse ajas lineaarselt elektrolüüdilahuse ja objekti piirpinnal toimuvate võimalike elektrokeemiliste protsessidega kaasnevat voolutugevust. Mõõtmise tulemusena saadakse objekti pinnal toimuvaid elektrokeemilisi protsesse kirjeldav potentsiaali ja voolutugevuse vaheline sõltuvus ehk voltamperogramm.

Mõõtmiseks sobiv potentsiaalide vahemik ja laotuskiirus (skaneerimise kiirus ehk potentsiaali muutmise kiirus – mV/s) valitakse vastavalt katse eesmärgile. Näiteks teostatakse skaneerimine aeglaselt (nt. 1 mV/s) korrosiooni potentsiaali (E_{cor}) lähedases potentsiaalide vahemikus (nt. algpotentsiaal $-250 \text{ mV vs. } E_{\text{cor}}$ ja lõpp-potentsiaal $+250 \text{ mV vs. } E_{\text{cor}}$), kui on tarvis määrata korrosiooni kiirust iseloomustavat korrosioonivoolu (I_{cor}). Juhul, kui on tegu väga vastupidavate materjalide või kaitsekatetega, siis võib katseobjektile rakendada kõrgemaid anoodseid potentsiaale, et kutsuda esile korrosiooni või katte lagunemist. Erinevate materjalide või kaitsekatete tõhusust saab seejuures hinnata kõige anoodsema potentsiaali juures mõõdetud voolutugevuse järgi (I_{max}). Nimelt on uuritava objektile (ehk tööelektroodil) toimuvate protsessidega kaasnev voolutugevus sõltuv elektrolüüdiga vahetus kontaktis olevast elektrit juhtiva pinna pindalast. Kui juhtiv pind on kaetud kasvõi osaliselt elektrit mittejuhtiva kaitsekattega, siis on nii mõõdetav korrosioonivool kui ka voolutugevus maksimaalsel anoodsel potentsiaalil oluliselt väiksem kui katmata pinna korral. Lisaks sellele saab kaitsekatete tõhusust hinnata selle järgi, millise anoodse potentsiaali juures hakkavad tekkima esimesed

defektid (E_{pit} – ingl. k. *pitting potential*). Näidis-voltamperogrammid, millel on E_{cor} , I_{cor} ja E_{pit} ja I_{max} , on toodud allolevatel joonistel (Joonis 5a ja Joonis 5b).



Joonis 5a. Katood- ja anoodvoolu komponendid korrosiooniprotsessis.



Joonis 5b. Lineaarse voltamperomeetria kõver kõrgematel potentsiaalidel teostatud mõõtmistest, E_{pit} märgib punktkorrosiooni väärtust – antud töö raames märgib järsk voolutugevuse tõus kaitsekatte purunemist; I_{max} märgib suurimat voolu väärtust.

1.7. Probleemipüstitus

Meditšiinilist titaani, eriti selle sulamit alumiiniumi ja vanaadiumiga (Ti6Al4V), kasutatakse laialdaselt nii ortopeediliste kui ka hambaimplantaatide valmistamiseks [51]. Kuigi sulam Ti6Al4V on tõestatult bioloogiliselt hea implanteerimismaterjal, võib sulamist difundeeruda inimorganismi nii toksilisi Al- ja V-ioone kui ka Ti-ioone, mis võivad põhjustada ümbritsevate kudede taandumist ja värvumist halliks [52-53]. Organismi keskkonnas on ka tingimused kiirendatud korrosiooniprotsesside tekkimiseks, mis võivad degradeerida implantaadimaterjali ja kulmineeruda selle purunemisega. Viimastel aastatel tehtud uuringud on näidanud, et implantaatide bioühilduvust saab olulisel määral parandada, kui karestada nende pindu liivapritsiiga, keemilise söövitamise või nende kombineerimisega [54-55]. Samuti on näidatud, et meditsiinilist titaani on võimalik muuta bioühilduvamaks kasutades üliõhukesi funktsionaalseid katteid [15-16]. Tsirkooniumdioksiidi eeliseks puhta titaani pinna ees on hea korrosioonile vastupidavus ning asjaolu, et selle materjali vastu allergilisi reaktsioone ei esine [56]. Aatomkihtsadestus implantaadi pinna funktsionaliseerimiseks on eriti sobilik just keeruka kuju ja geomeetriaga hambaimplantaatide korral, kuna meetod võimaldab ühtlase ja hästi kontrollitava paksusega katete valmistamist [44-46].

Seetõttu uuriti käesolevas töös võimalusi meditsiinilise titaani bioühilduvuse parandamiseks, kasutades selleks erinevatel temperatuuridel aatomkihtsadestatud tsirkooniumdioksiidi kilesid.

2. Eksperimentaalne osa

2.1. Titaani eeltöötlus

Käesolevas töös kasutati katseobjektidena meditsiinilise titaani Ti-5 sulamist (Ti6Al4V) valmistatud silindrilisi kettaid (18 tk), diameetriga 20 mm ja kõrgusega 3 mm. Katseobjektid saadi partner-ettevõttelt Micro-Fix OÜ. Kõik katseobjektid olid juba eelnevalt ettevõtte poolt karestatud standardmeetodina liivapritsiiga. EDXS-i ja XRF-ga määratud titaanisulami elemendiline koostis on toodud käesoleva töö 3. peatükis tulemuste ja analüüsi osas, Tabelis 4.

Kõikidele töös kasutatud objektidele tehti enne eksperimente, söövitamist ning pinnakatete sadestamist standardne puhastus, et eemaldada pinnal olev orgaaniline mustus. Objektid loputati esmalt rohke deioniseeritud veega. Sellele järgnes 5-minutiline puhastus ultrahelivannis uue deioniseeritud veega. Objektid loputati ja keeduklaasides olnud vesi vahetati välja. Sellist puhastusetappi korrati kolm korda. Peale seda puhastati katseobjekte orgaanilisest mustusest ultrahelivannis orgaaniliste lahustite abil. Puhastus viidi läbi järgemööda toluenis (puhtusastmega $\geq 99,5\%$, Carl ROTH) 5 minutit, atsetoonis ($\geq 99,5\%$, Carl ROTH) 5 minutit ning isopropanoolis ($\geq 99,5\%$, Sigma-Aldrich) 5 minutit. Viimase puhastusprotsessi etapina loputati objekte veelkord rohke deioniseeritud veega.

Eeltöötuse jaoks teostati 16-le silindrilisele objektile keemiline söövitamine erinevate hapete ja leeliste segudega, eeltöötuse parameetrid on toodud Tabel 2-s.

Tabel 2. Katseobjektide keemiline söövitus.

Lahus	Kontsentratsioon	Aeg (min)	Temperatuur (°C)	Etapi number
HCl	10%	15	80	1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15
NaOH/H ₂ O ₂	0,5M/ 1M	15	toatemperatuur	2, 4, 6, 8, 10, 12, 14

Lahuste valmistamiseks kasutati järgmisi aineid: HCl (36,5-38%, Sigma-Aldrich), NaOH (98-100%, Sigma-Aldrich) ning H₂O₂ (30% Carl ROTH). Söövitavaks eeltöötuseks valmistati 10% HCl lahus ning segulahus 0,5M NaOH / 1M H₂O₂. Objekte söövitati esmalt HCl lahuses 80°C juures 15 minuti vältel, millele järgnes puhastamine deioniseeritud veega. Seejärel viidi

katseobjektid 15 minutiks NaOH/H₂O₂ segulahusesse (22°C), millele järgnes puhastamine deioniseeritud veega. Sellist kahes lahuses söövitamist korraldati kokku 7 korda. Viimase etapina söövitati objekte veelkord HCl lahuses ning loputati eelnevalt kirjeldatud meetodil.

2.2. Aatomkihtsadestus

50 nm paksuste ZrO₂ katete aatomkihtsadestamine viidi läbi madalal rõhul läbivoolu tüüpi reaktoris Picosun R200 [57]. Katete valmistamisel olid lähteainetena kasutusel gaasifaasis olevad tsirkoonium(IV)kloriid (ZrCl₄, Strem Chemicals, Inc.) ja vesi (H₂O). Erineva kristallstruktuuriga katete sadestamiseks kasutati kasvatemperatuure 250°C, 300°C, 350°C, 400°C ja 450°C, kuna ZrO₂ katete sadestamisel kloriidsest lähteainest võivad üleminekud erinevate struktuuride vahel toimuda kitsaste temperatuurivahemike raames [58]. Lähteaine ZrCl₄ aurustati 200°C juures. ZrO₂ kilede sadestus toimus 600-640 tsükli vältel vastavalt sadestustemperatuurile, et saada ~50 nm paksused kiled. Ühes tsüklis olevate pulsside ajad olid järgmised:

- 1) 0,2 s, ZrCl₄ (esimene lähteaine),
- 2) 4 s, N₂ (üleliigse lähteaine ja gaasiliste reaktsiooni kõrvalproduktide eemaldamiseks reaktsioonikambrist),
- 3) 1 s, H₂O (teine lähteaine),
- 4) 12 s, N₂ (üleliigse lähteaine ja gaasiliste reaktsiooni kõrvalproduktide eemaldamiseks reaktsioonikambrist).

Katete sadestamise parameetrid on kokkuvõtvalt toodud allolevas tabelis (Tabel 3).

Tabel 3. ALD ZrO₂ katete sadestamise parameetrid.

Sadestustemperatuur (°C)	Lähteained	Ajaskeem	Tsüklite arv
250	ZrCl ₄ ja H ₂ O	0,2/4/1/12	600
300	ZrCl ₄ ja H ₂ O	0,2/4/1/12	610
350	ZrCl ₄ ja H ₂ O	0,2/4/1/12	620
400	ZrCl ₄ ja H ₂ O	0,2/4/1/12	630
450	ZrCl ₄ ja H ₂ O	0,2/4/1/12	640

2.3. Pindade karakteriseerimine

2.3.1. Katseobjektide hüdrofiilsuse määramine

Katseobjektide pindade märguvust uuriti koht-tilgutusmeetodil kasutades füsioloogilist lahust, milleks oli 0,9% (w/V) NaCl lahus ($\text{NaCl} \geq 99,0\%$, Sigma-Aldrich) [59]. Koht-tilgutamine viidi läbi „VWR Ergonimoc High-Performance“ pipeti ning „VWR Universal Yellow Tips“ pipetiotsakutega, kus pipeteeritava lahuse kogus igale silindrilisele katseobjektile oli 30 μL . Märgumisnurga mõõtmiseks tehti objektidest fotod ning nurga suurus katseobjekti ja lahuse tilga piirpinna ning lahuse tilga ja õhu piirpinna vahel määrati arvutiprogrammi Adobe Photoshop CS6 abil. Kasutatud meetodi tulemuste analüüsis võib vea-allikatenä arvestada pipeteerimisel ja pildistamisel tekkinud määramatusi. Objektide märguvuse tulemused on toodud töö 3. peatükis tulemuste ja analüüsi osas, Tabelis 7.

2.3.2. Katseobjektide pindade topograafia, koostise ja struktuuri määramine

Katseobjektide pinnatopograafiat uuriti kahekiirelise SEM-FIB skaneeriva elektronmikroskoobiga Helios Nanolab 600 (FEI). Piltide tegemisel kasutati sekundaarseid elektrone ning primaarseid elektrone kiirendavaks pingeks oli 2 keV ja 10 keV. Sadestatud ZrO_2 katete paksust mõõdeti pooleksmurtud räniplaatide pealt, mis olid eelnevalt kaetud samaaegselt Ti-5 objektidega. Energiadiispersiivne analüüs viidi läbi Helios Nanolab 600 küljes oleva analüsaatoriga INCA Energy 350 (Oxford Instruments), kasutades primaarsete elektronide kiirendamiseks pingeid 8 keV ja 20 keV. Pindade ja pinnakatete elementanalüüsi teostati ka röntgenfluorestsents spektroskoobiga XRF Rigaku ZSX400. Pinnakatete (kristall)struktuuri ja tihedust määrati röntgendifraktomeetriga Rigaku SmartLab, kasutades $\text{Cu K}\alpha$ kiirgust.

2.3.3. Katseobjektide ja pinnakatete elektrokeemiline testimine

Elektrokeemilised mõõtmised viidi läbi potentsiostaadiga Reference 600 (Gamry) kolmeelektroodilises mõõterakus (PTC1TM Paint Test Cell), kasutades tööelektroodina katseobjekte, võrdluselektroodina küllastatud kalomelektroodi (Gamry) ja vastaselektroodina

Pt-traati. Testitav pindala oli 1 cm^2 , mis saavutati spetsiaalsete elektrokeemiliste maskide abil (Gamry Instrumental 990-00254 Electrochemical Sample Masks PortHoles™, 1 cm^2). Katsed viidi läbi elektrolüüdis, milleks oli füsioloogiline lahus ehk 0,9% (w/V) NaCl ($\text{NaCl} \geq 99,0\%$, Sigma-Aldrich). Mõõtmised viidi läbi lineaarse voltamperomeetria meetodil erinevates potentsiaalide vahemikes ja erinevate laotuskiirustega, alustades kõige vähem destruktiivsetest tingimustest:

- a) Algpotentsiaal -250 mV vs. E_{cor} , lõpp-potentsiaal +250 mV vs. E_{cor} , laotuskiirus 1 mV/s,
- b) Algpotentsiaal -1 V vs. SCE, lõpp-potentsiaal +2 V vs. SCE, laotuskiirus 1 mV/s,
- c) Algpotentsiaal -1 V vs. SCE, lõpp-potentsiaal +10 V vs. SCE, laotuskiirus 300 mV/s.

2.4. Katsed bioühilduvuse hindamiseks rakukasvatuste abil

Selleks, et hinnata uurimustöös testitavate materjalide ja pinnakatete bioühilduvust, kasvatati katseobjektide pindadele fibroblaste. Bioühilduvuse uuringud viidi läbi koostöös Tartu Ülikooli Molekulaar- ja Rakubioloogia Instituudiga (TÜMRI) ning tööde läbiviijaks oli PhD Kristina Mäemets.

Rakkude kasvatamine toimus kahes etapis, kõigepealt kasvatati rakke koekultuurides ning seejärel titaanist katseobjektidel.

Koekultuuris kasvatamise protsessi läbiviimine: inimese primaarseid fibroblaste kasvatati 7 päeva 30 mm läbimõõduga koekultuuri Petri tassidel (BD Biosciences, USA) kõrge glükoosi sisaldusega (4500 mg/ml) Isocove'i poolt modifitseeritud Dulbecco (IMDM) söötmes (Lonza, Belgia), mis sisaldas 10% (v/v) veise loote seerumit (Gibco, USA), 100 U/ml penitsillini, 100 µg/ml streptomütsiini (PAA, Austria), 25 mM HEPES (4-(2-hüdroksüetüül)-1-piperazineetaansulfoon hape) puhvrit. IMDM sööde kasutab naatrium bikarbonaat puhvri süsteemi (3,024 g/l) ja füsioloogilise pH (u 7,4) hoidmiseks kasvatati rakke 37° C juures 5% CO₂ inkubaatoris.

Titaanobjektidel kasvatamise protsessi läbiviimine: plaatidel kasvavaid rakke pesti fosfaatpuhverdatud soolalahusega (PBS) ja tõsteti lahusesse 0,05% trüpsiini lahusega, mis sisaldas 0,53 mM etüleendiamiintetraädikhapet (Invitrogen, USA). Rakke tsentrifuugiti 200 g juures 5 min, eemaldati trüpsiiniga sööde ja lisati värske rakkude kasvusööde. Titaanobjektid asetati 6-kannulistesse koekultuuri plaatidesse (BD Biosciences, USA) ja steriliseeriti 70%

etanooliga umbes 10 s vältel, seejärel eemaldati etanooli jäägid PBSiga pestes. Igale titaanobjektile pipeteeriti 400 µl söödet, mis sisaldas 4000 fibroblasti (sööde koos rakkudega moodustas titaanplaatidel „kuhja“). Titaanobjekte inkubeeriti rakke sisaldava söötmetilgaga 3 h 37° C ja 5% CO₂ juures inkubaatoris. Kolme tunni möödudes, kui rakud olid titaanobjektidele kinnitunud, täideti kannud värsket söötmega. Rakke kasvatati kultuuris 7 päeva.

Viimaks valmistati fibroblastid ette fluorestsentsanalüüsiks. Sööde eemaldati kannudest ja rakke pesti PBSiga, seejärel fikseeriti rakud 10 min 4% (w/v) paraformaldehüüdiga. Rakke permeabiliseeriti (ehk rakumembraani augustati) 0,2% Triton X-100 PBS lahusega 10 min ja mittespetsiifilise antikehade seondumise vältimist blokeeriti 5% eesli seerumiga PBSis 1 tund. Rakkude proliferatsiooni markeerimiseks kasutati küülikus toodetud inimese Ki67-vastast antikeha (Abcam) 1/100 lahjendusega üleöö 4°C juures blokeerimislahuses. Seejärel lisati sekundaarne fluorestseeruv kitses toodetud küüliku vastane Alexa-594-ga konjugeeritud antikeha (Invitrogen, USA) 1/1000 lahjendusega 60 min. Rakkude tsütoskelett visualiseeriti inkubeerides objekte 20 min falloidin-Alexa-488 (Invitrogen, USA) abil, mis seostub filamentse aktiiniga. Rakkude tuumad värviti inkubeerides objekte 2 min 1 µg/ml 4',6-diamiid-2-fenüliindiooli (DAPI) lahusega. Objekte hoiti kuni analüüsimiseni 1xPBS lahuses 4°C juures. Objekte pildistati Olympus BX-71 fluorestsentsmikroskoobiga kasutades 10x suurendusega objektiivi.

3. Tulemused ja analüüs

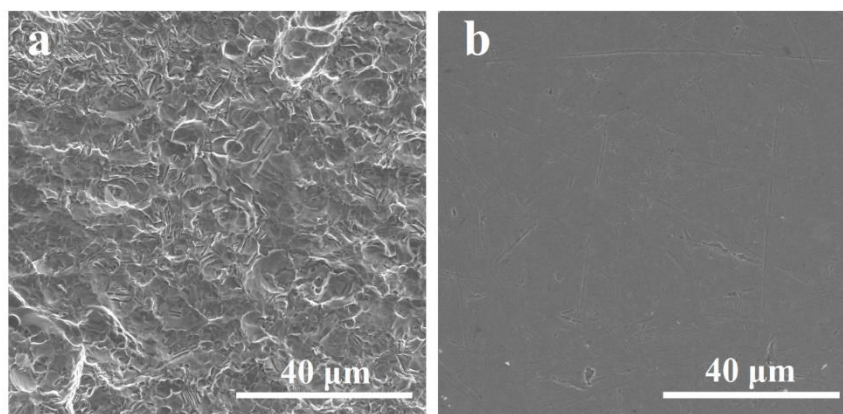
3.1. Materjali, pindade ja ALD meetodil valmistatud katete karakteriseerimine (SEM, XRF, XRD, XRR)

3.1.1. Tulemused

Elementanalüüs XRF-i ja EDX-ga näitas, et uuringuteks kasutatud liivapritsi ja keemilise söövitamisega karestatud meditsiinilise titaani koostis on sarnane kirjanduses toodud kraad 5 titaanile [21, 60], tulemused toodud allolevas tabelis (Tabel 4). Lisaks on näha allolevalt jooniselt (Joonis 6), et sellise mehaaniliselt ja keemiliselt karestatud katseobjekti pind on ühtlase mikromeetri-skaalal oleva karedusega ning pinnal puudusid lahtiseid või poollahtiseid tükid.

Tabel 4. Uuringuteks kasutatava titaanisulami Ti-5 elemendiline koostis, mis on määratud SEM-EDXS ja XRF meetoditel ning Ti-5 titaani standardne koostis kirjandusest [21, 60].

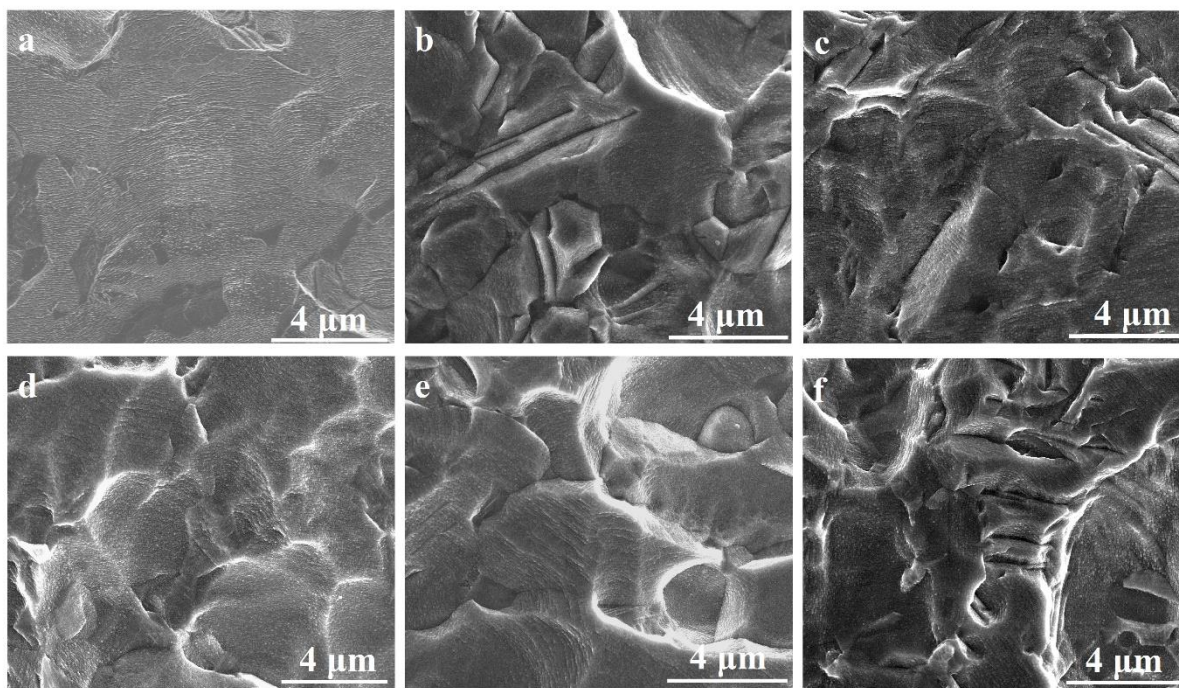
Meetod	Ti (m%)	Al (m%)	V (m%)	Muu
SEM-EDXS	84,8	6,3	3,9	O < 5%
XRF	89,5	5,4	3,6	O < 1,5%
Standardne koostis	88,7-91	5,5-6,8	3,5-4,5	C < 0,08% Fe < 0,25% O < 0,2%



Joonis 6. SEM sekundaarelektronidega saadud pildid: a) mehaaniliselt ja keemiliselt karestatud Ti-5 pind, b) töötlemata ja karestamata Ti-5 pind.

Samuti ei leitud SEM uuringutel pinnalt sügavaid vagusid ega auke, mehaaniliselt ja keemiliselt töötlemata pind on seevastu mikroskaalal sile ja üksikute vagudega.

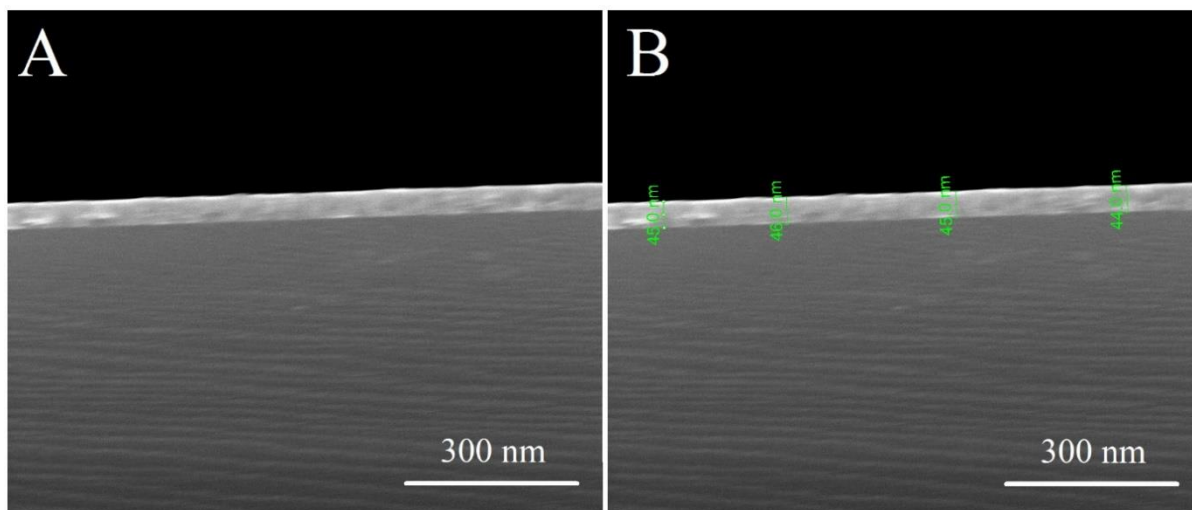
ALD meetodil valmistatud ZrO_2 katete pinnajärgivust uuriti samuti skaneeriva elektronmikroskoobiga, alloleval joonisel (Joonis 7) on toodud pildid SEM-i uuringutest, kus on näha, et kõigil temperatuuridel sadestatud pinnakatted järgisid ühtlaselt kareda aluspinna topograafiat.



Joonis 7. SEM-i pildid erinevatest implantaadipindadest: a) liivapritsiga karestatud ja keemiliselt töödeldud meditsiinilise titaani pind (ehk töödeldud Ti-5 pind), b) 250°C juures sadestatud kate töödeldud Ti-5 pinnal, c) 300°C juures sadestatud kate töödeldud Ti-5 pinnal, d) 350°C juures sadestatud kate töödeldud Ti-5 pinnal, e) 400°C juures sadestatud kate töödeldud Ti-5 pinnal, f) 450°C juures sadestatud kate töödeldud Ti-5 pinnal.

Aatomkihtsadestatud tsirkoonia kilede paksust mõõdeti SEM-i, XRF-i ja XRR-i meetodil räniplaatidelt, mis kaeti samaaegselt (samas reaktoris) titaanist objektidega. Pooleks murtud ZrO_2 kattega räniplaatide murdepindade uuringud SEM-iga näitasid, et erinevatel temperatuuridel sadestatud kilede paksus oli vahemikus 44,5 nm - 61 nm, mis on lähedane eesmärgiks olnud 50-le nm-le (Joonis 8). Tabelis 5 toodud XRR-i meetodil mõõdetud paksused olid samuti sarnase paksusega, olles vahemikus 43,1 nm kuni 58,6 nm. XRF-i mõõtmiste tulemuste järgi arvutatud kilede paksused olid vahemikus 42,1 kuni 58,3 nm. Suurimad erinevused paksuste mõõtmisel erinevate meetoditega esinesid kilede korral, mis olid

sadestatud 300°C, 350°C ja 400°C juures. XRR-i meetodil mõõdetud tsirkoonia kilede karedused olid vahemikus 1,2 nm kuni 1,6 nm, kus kõige karedam oli 300°C juures sadestatud kile.



Joonis 8. ALD meetodil valmistatud ZrO_2 katete paksuste mõõtmine pooleksmurtud räniplaatidelt. Joonisel kujutatud 300°C juures sadestatud katte paksuse mõõtmist: A) pildil kujutatud külgsuunas räniplaat ja ZrO_2 kate, B) mõõdetud paksus samal räniplaadil, märgistatud rohelistega.

Röntgendifraktsiooni meetodil läbi viidud pinnakatete struktuuri uuringud räniplaatidel näitasid, et täiesti ühtlase faasikoostisega katteid ei saavutatud, kõigil temperatuuridel sadestatud katted sisaldasid erinevas osakaalus tetragonaalset ja monokliinset faasi. 250°C juures sadestatud katted sisaldasid peamiselt monokliinset faasi, väga vähesel määral ka tetragonaalset, 300°C juures sadestatud katted sisaldasid monokliinset ja tetragonaalset faasi üsna sama suurel määral, 350°C juures sadestatud katted sisaldasid peamiselt tetragonaalset ja väga vähe monokliinset faasi, 400°C juures sadestatud katted sisaldasid suuremas osas tetragonaalset ja mõnel määral monokliinset faasi ning 450°C juures sadestatud katted sisaldasid tetragonaalset ning äärmiselt vähesel määral monokliinset faasi.

3.1.2. Tulemuste analüüs

3.1.2.1. Katete paksused

Nii röntgenpeegelduse (XRR) kui ka röntgenfluorestsents (XRF) mõõtmiste uuringutel saadi katete paksuste väärtused üksteisele väga sarnased, kuna XRR-i meetodil mõõdetud katete tiheduste väärtuseid kasutati XRF-i mõõtmistulemuste juures ZrO_2 katete

paksusväärtuste arvutamisel teoreetilisest valemist, mis arvestab tsirkooniumi võimet hapnikku endaga siduda. Veakohaks võib lugeda teoreetilise tsirkooniumi hapniku sidumise võime ja reaalselt katsetingimustes toimunud reaktsioonide erinemist ja asjaolu, et XRR-i meetodil määratud ZrO_2 kilede tihedus oli sama väärtusega kõikide sadestustemperatuuride korral.

Võrreldes omavahel SEM-i meetodil ja röntgenmeetoditel saadud katete paksuseid, on näha, et kõige paremini langevad tulemused kokku 250°C juures sadestatud ZrO_2 kile korral. Teistel temperatuuridel sadestatud ZrO_2 kilede puhul võib mõõdetud paksuse väärtus erineda 4-10 nm, sõltuvalt mõõtmise meetodist.

SEM-i meetodil mõõdetud katsete väärtused on keskmistatud räniplaadi külgvaates skaneerimisel mõõdetud paksusväärtuste 7 erineva mõõtetulemuse kohta. Peamiseks vea allikaks võib lugeda SEM-i operaatori täpsust ja vilumust paksuste mõõtmisel, kuid viga ei ületa 5 nm. Aatomkihtsadestusel eeldati, et sadestustemperatuuri tõus iga 50°C kohta nõuab ühtlase katte paksuse saavutamiseks 10 lisa sadestustsüklit, mõõtmiste andmeid uurides ja võimalikke veakohti teades võib öelda, et ühtset seaduspära on veel vara välja pakkuda, esmalt tuleks ZrO_2 katete sadestamisprotsessi samadest lähteainetest ja sama reaktoriga [56] põhjalikumalt ja süstematiseeritumalt katsetada. Sellegipoolest vastasid sadestatud katete paksused ootustele, mahtudes vahemikku ca 50 nm \pm 10 nm. Katete paksuste ja kareduste väärtused on toodud allolevas tabelis (Tabel 5).

Tabel 5. Si-plaatidele aatomkihtsadestatud ZrO_2 katete paksused ja karedused, mis on mõõdetud SEM, XRD ja XRR meetoditel.

Sadestus- temp., $^\circ\text{C}$	ALD ZrO_2 tsüklid	Katete paksused			Katete karedused
		SEM, nm	XRR, nm	XRF, nm	XRR, nm
250	600	61	58,6	58,3	1,19
300	610	44,5	54,3	52,6	1,64
350	620	48,5	43,1	42,1	1,24
400	630	57,9	48,1	47	1,28
450	640	44,7	49,6	49,5	1,56

3.1.2.2. Katete kristallstruktuurid ja seosed XRR karedusväärtustega

Röntgendifraktsiooni meetodil läbi viidud pinnakatete struktuuri uuringud räniplaatidel näitasid, et täiesti ühtlase faasikoostisega katteid ei saavutatud. Kõigil temperatuuridel sadestatud katted sisaldasid erinevas osakaalus nii monokliinset kui ka tetragonaalset faasi. Üldise tendentsina on allolevas tabelis (Tabel 6) siiski näha, et madalamatel temperatuuridel aatomkihtsadestusel domineerib ZrO_2 katetes monokliinne ning kõrgematel temperatuuridel tetragonaalne faas.

Tabel 6. Katseobjektide pinnakatete XRD meetodil uuritud faasikoostised ja XRR-i meetodil saadud karedused.

Sadestustemp. (°C)	ALD tsüklite arv	ALD ZrO_2 katte faasid, (iga katte puhul on suurema osakaaluga faas toodud esimesena)	ZrO_2 kile karedus, XRR (nm)
250	600	Monokliinne Tetragonaalne	1,19
300	610	Monokliinne Tetragonaalne	1,64
350	620	Tetragonaalne Monokliinne	1,24
400	630	Tetragonaalne Monokliinne	1,28
450	640	Tetragonaalne Monokliinne	1,56

Mõõdetud andmetulemuste kõverate reflekse kõrvutati andmebaaside tulemustega ning piikide asukohtade, intensiivsuste ja lõhenemiste järgi hinnati erinevate faaside leidumist ZrO_2 katetes. Veakohtadena võib arvestada asjaolu, et analüüs tehti libiseva kiire meetodil, kus reflekside intensiivsust mõjutab kristalliitide orientatsioon (sellest sõltuvalt võib signaali tugevus olla erinev andmebaaside informatsioonist, samuti võivad piikide asukohad veidi nihkuda). XRD uuringute põhjal võib väita, et katete karedus sõltub tetragonaalse faasi sisaldusest. Märkimisväärne on siiski asjaolu, et kõige suurem karedus mõõdeti 300°C juures sünteesitud ZrO_2 kile korral, kus monokliinset ja tetragonaalset faasi oli umbes samal määral. Kiled, kus

monokliinset faasi oli rohkem kui tetragonaalset, või vastupidi, olid seevastu siledamad. 250°C juures sünteesitud ZrO₂ kile väiksem karedus võib olla tingitud kiles olevast amorfsest komponendist, mis ei ole XRD meetodil määratav.

3.2. Elektrokeemilised korrosioonitestid

Katseobjektide korrosioonikindluse ning sadestatud pinnakatetes esineda võivate defektide tuvastamiseks kasutati lineaarse voltamperomeetria katseid, mis viidi läbi erinevates potentsiaalide vahemikes.

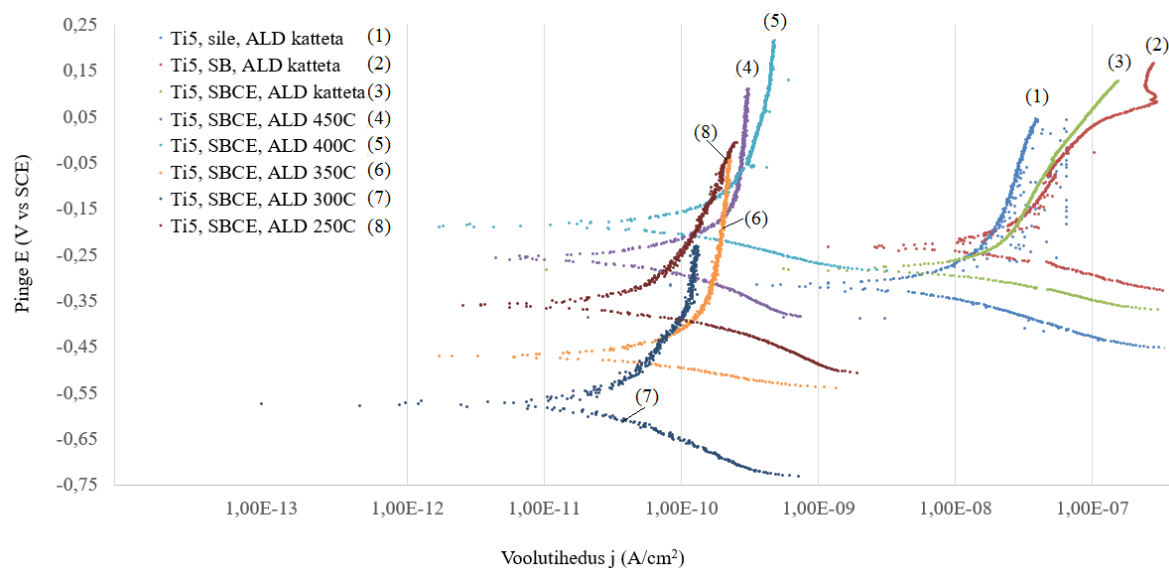
3.2.1. Tulemused

Korrosioonipotentsiaali lähedases potentsiaalide vahemikus mõõdetud polarisatsioonikõvaratelt on näha, et kõikide aatomkihtsadestatud katetega katseobjektide puhul oli korrosioonivool võrreldes katmata katseobjektidega mitu suurusjärku väiksem (Joonis 9). Kõige väiksemat korrosioonivoolu täheldati katseobjekti korral, mis oli kaetud ZrO₂ kilega temperatuuril 300°C (Joonis 9, polarisatsioonikõver 7). Teine, üsna madal, kuid veidi suurem korrosioonivoolu väärtus, mõõdeti katseobjekti puhul, mis kaeti ZrO₂ kilega 250°C juures (Joonis 9, polarisatsioonikõver 8). Kõige suurem korrosioonivool oli eelduspäraselt ilma ZrO₂ kateteta objektidel (Joonis 9, polarisatsioonikõverad 1, 2 ja 3).

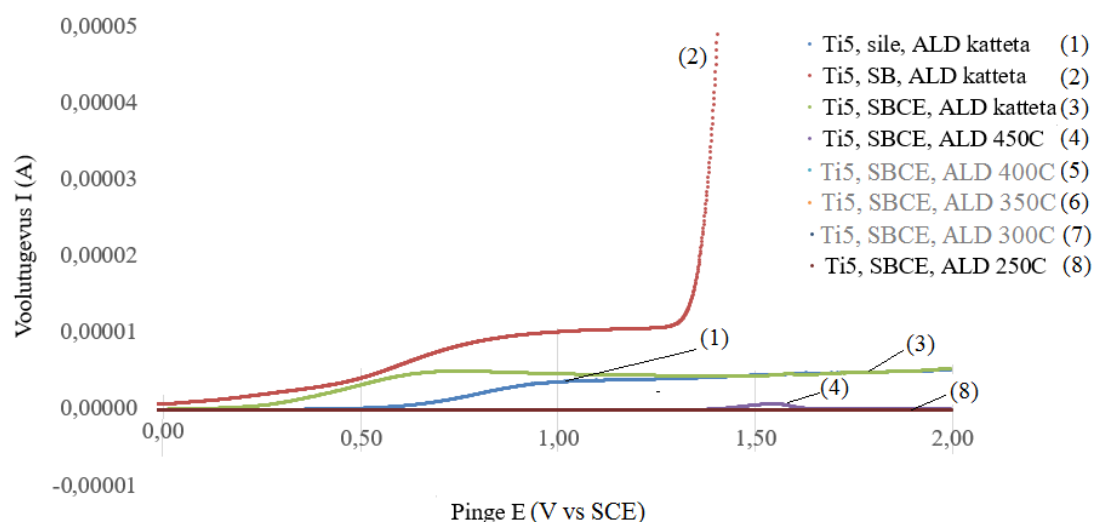
Joonistel 10 ja 11 toodud polarisatsioonikõveratelt on näha, et kõrgetel anoodsetel potentsiaalidel on madalaim voolutugevus anoodse potentsiaali 10 V (vs. SCE) juures katseobjekti korral, mis oli kaetud 300°C juures ZrO₂ kilega (Joonis 10, polarisatsioonikõver 7). Veidi kõrgem voolutugevus (kuid endiselt üks madalamaid) samadel potentsiaalidel oli mõõdetud katseobjektil, mis oli kaetud ZrO₂ kilega temperatuuril 250°C. Kõrgematel temperatuuridel kaetud Ti-5 objektide korral täheldati olulist voolutugevuse tõusu potentsiaalide vahemikus 6-8 V (vs. SCE) (Joonis 11). Erandiks oli 450°C juures ZrO₂ kilega kaetud objekt, mille korral täheldati esmast voolutugevuse tõusu juba 1,5 V (vs. SCE) juures (Joonis 10). Nagu Joonistel 10 ja 11 näha, oli ilma ZrO₂ kateteta objektide puhul voolutugevus madalamatel anoodsetel potentsiaalidel (kuni +6 V-ni) esialgu reeglina suurem kui kaetud objektidel, kuid kõrgematel potentsiaalidel (nt. 10 V vs. SCE juures) olid rollid osadel juhtudel vahetunud.

3.2.2. Analüüs

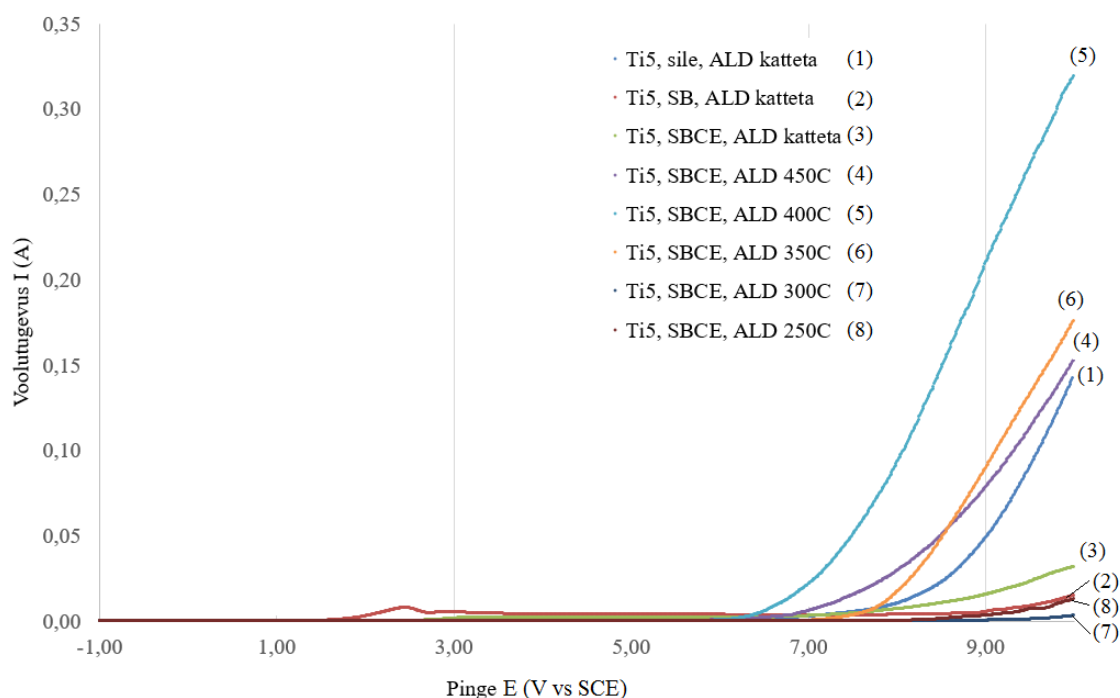
Erinevates potentsiaalide vahemikes tehtud mõõtmised näitasid, et temperatuuridel 250°C ja 300°C valmistatud katted olid kõige vastupidavamad korrosioonile (Joonised 9, 10, 11, Tabel 8), kuna nende puhul oli korrosioonivool kõige väiksem ning maksimaalse rakendatud pinge (10 V vs SCE) juures ei ilmnenud märgatavat voolutugevuse tõusu, mis oleks viidanud elektrokeemilistele protsessidele (nt. korrosioonile).



Joonis 9. Lineaarse voltamperomeetria katsete kõverad.



Joonis 10. Pindade ja pinnakatete korrosioonile vastupidavus pingeväärtustel kuni 2V. Käesoleval joonisel puuduvad halliga toodud kõverad (5, 6 ja 7) nullilähedaste voolutugevusväärtuste tõttu.



Joonis 11. Pindade ja pinnakatete korrosioonile vastupidavus pingeväärtustel -1V kuni 10V.

250°C ja 300°C juures sadestatud katted sisaldasid peamiselt monokliinset faasi, tetragonaalset faasi leidis neis vähem (300°C kile korral oli peaaegu võrdne osakaal mõlemal faasil). Katseobjektide puhul, mis olid kaetud temperatuuridel 350°C, 400°C ja 450°C, esines teatud anoodse potentsiaali rakendamisel järsk voolutugevuse tõus (Joonised 10 ja 11), mis viitab katte lagunemisele. Eelnevalt läbi viidud XRD uuringute (Tabel 6) põhjal võib väita, et erinevatel temperatuuridel sadestatud ZrO_2 kiledes esinev suurem tetragonaalse faasi sisaldus on seotud katematerjali korrosioonikindluse langusega. Nimelt on tsirkoonia monokliinne ja tetragonaalne faas erinevate soojuspaisumisteguritega ja seega võisid aatomkihtsadestuse järgse jahtumisprotsessi ajal tekkida sisemised pinged, mis viisid mikroskoopiliste defektide (mõrade) tekkeni. Selliste üksikute mõrade kaudu pääseksid korrodeerivad ained metallini (kus nad kutsuvad esile kiirendatud korrosiooni) ja põhjustaksid katte lagunemist elektrokeemilises testis (Joonis 11). Seejuures kulgeb korrosioon kõrgetel potentsiaalidel kaetud ja katmata objektide korral erinevalt. Kattega objektide puhul algab korrosiooniprotsess kattes olevast üksikust defektist, mille tulemusena koorub kaitsekate järk-järgult maha, mille tulemusena paljastub värske metallipind. See värske metallipind reageerib kohe elektrolüüdiga ja see väljendub Joonisel 11 toodud polarisatsioonikõveratel kõrge voolutugevusena. Ilma kaitsekateteta objektide puhul esines samuti märgatav voolutugevuse tõus, kuid kõrgematel potentsiaalidel esines pinna järk-järguline passiveerumine (oksüdeerumine), mille tõttu olid osad mõõdetud voolud väiksemad kui purunenud katete korral. Arvestades elektrokeemiliste

mõõtmiste tulemusi võib öelda, et kõik katseobjektid pidasid ekstreemsetes tingimustes väga hästi vastu, kuid eriti vastupidavaks osutus 300°C juures sadestatud ALD ZrO₂ kattega objekt, millele järgnes (korrosioonikindluse poolest) temperatuuril 250°C valmistatud kattega objekt.

3.3. Katseobjektide bioühilduvus

Katseobjektide bioühilduvust hinnati märgumisnurga mõõtmise ja rakukasvatuste abil. Märgumisnurga määramiseks kasutati füsioloogilist lahust ning rakukasvatuseks fibroblaste ehk kollageeni sünteesivaid sidekoe rakke, mis mängivad olulist rolli kudede tugistruktuuride ehituses ja haavade paranemises [61].

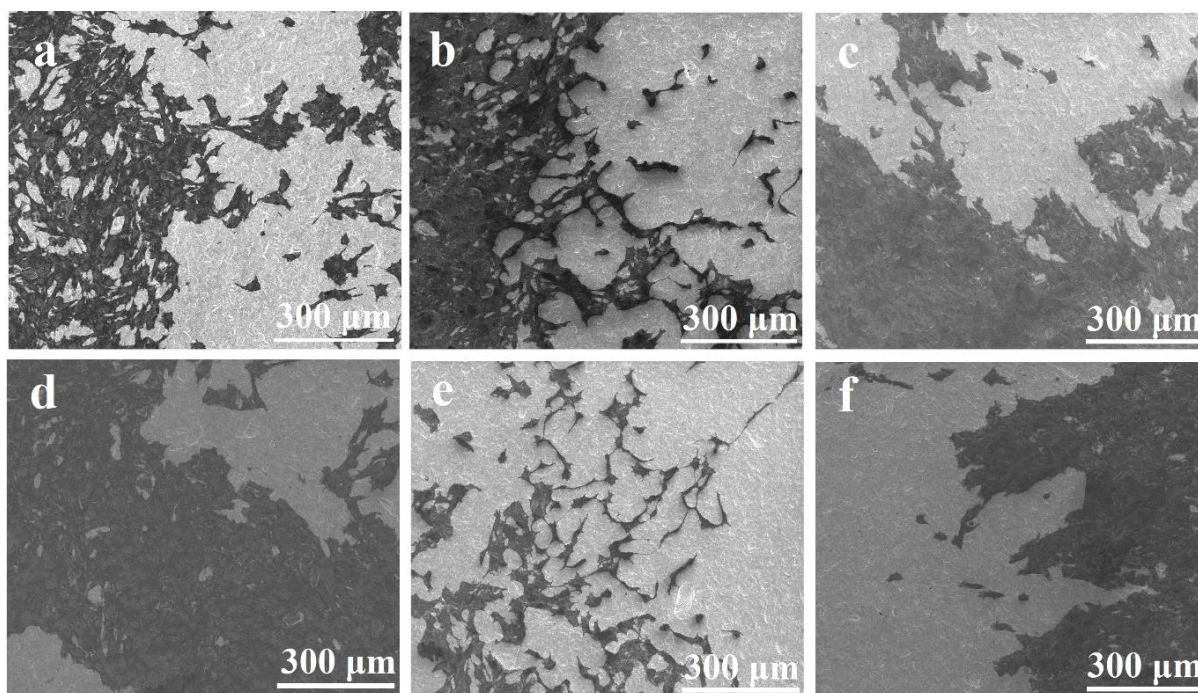
3.3.1. Tulemused

Koht-tilgutusmeetodil teostatud märgumiskatsed füsioloogilise lahusega näitasid, et kõikide ZrO₂ kiledega kaetud objektide puhul oli märgumisnurk väiksem kui 90° (Tabel 7). Kõige madalam märgumisnurk oli katseobjekti puhul, mis oli kaetud ZrO₂ kilega temperatuuril 300°C. Suurim märgumisnurk mõõdeti katseobjektil, mida oli vaid liivapritsiiga karestatud.

Tabel 7. Meditsiinilisest titaanist Ti-5 katseobjektide pindade märgumisomadused.

Objekt	Sile	SB	SBCE	SBCE+ ALD 250°C	SBCE+ ALD 300°C	SBCE+ ALD 350°C	SBCE+ ALD 400°C	SBCE+ ALD 450°C
Märgumisnurk (°)	78,5	95,7	85,8	89,7	62,4	80,8	85,2	79,4

Skaneeriva elektronmikroskoobi ja fluorestsentsmikroskoobiga tehtud pildid näitasid, et rakud olid hästi kinnitunud kõikidele objektidele (Joonised 12, 13 ja 14). Kõige vähem oli kinnitunud rakke ilma ZrO₂ kileta objektile, mida oli karestatud liivapritsi ja keemilise söövitamisega (Tabel 9 käesoleva töö lisas). SEM-uuringud näitasid ka seda, et tsirkoonia kiled ei saanud rakukasvatuse tingimustes kannatada. Fluorestsentsmikroskoopia alusel leiti, et jagunemisvõimelisi rakke oli kõikidel objektidel ning tsütoskelettide võrgustik kattis pinnad ühtlaselt ja tihedalt.

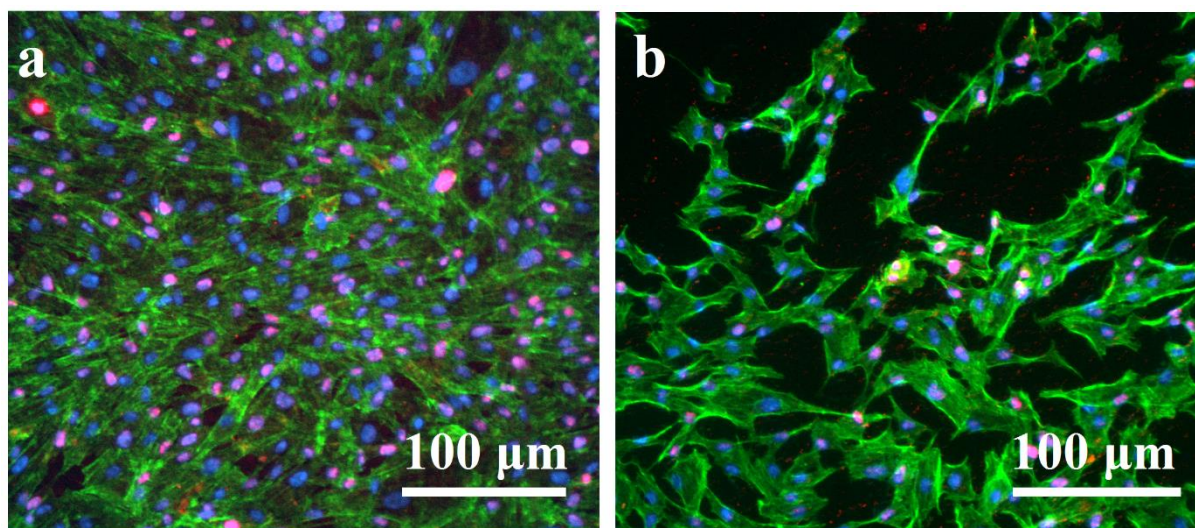


Joonis 12. SEM-i pildid erinevatest rakukasvatuse katsete implantaadipindadest: a) liivapritsiiga karestatud ja keemiliselt töödeldud meditsiinilise titaani pind (ehk töödeldud Ti-5 pind) fibroblastidega, b) 250°C juures sadestatud kate töödeldud Ti-5 pinnal koos fibroblastidega, c) 300°C juures sadestatud kate töödeldud Ti-5 pinnal koos fibroblastidega, d) 350°C juures sadestatud kate töödeldud Ti-5 pinnal koos fibroblastidega, e) 400°C juures sadestatud kate töödeldud Ti-5 pinnal koos fibroblastidega, f) 450°C juures sadestatud kate töödeldud Ti-5 pinnal koos fibroblastidega.

3.3.2. Analüüs

Rakukasvatuste tulemusena kinnitati, et kõik katseobjektide pinnad on bioühilduvad, kuid kinnitunud fibroblastide arv ja jagunemisvõimelisus sõltusid nii Ti-5 pinna eeltöötlustest kui ka sadestatud ZrO_2 kiledest. Näiteks on pikemat aega seisnud liivapritsiiga karestatud objektidel rohkem rakke kui objektidel, mida oli peale liivapritsiiga karestamist veel keemiliselt söövitatud (Joonis 13 ja Tabel 9 käesoleva töö lisas). See on tõenäoliselt tingitud asjaolust, et liivapritsiiga karestatud objekti pind oli pikema aja jooksul passiveerunud ja sellele oli moodustunud paksem oksiidikiht. Teise objekti korral oli see oksiidikiht eemaldatud ja pinnal oli vaid väga õhuke värske oksiid. Rakkude kinnitumise erisus võib olla seletatav pinnaenergiate erinevusest, ka kareduse erinevusest. Vähem tõenäoline, kuid mitte välistatud, on võimalus, et nõ värske pinnaga keemiliselt söövitatud objektist võis rakukasvatuse vältel väljuda Al- ja V- ioone

mõnevõrra rohkem kui vaid liivapritsiiga karestatud objektist. Need ioonid võisid mingil määral pärssida rakkude kasvu ja paljunemist, kuid kindlalt seda väita ei saa.

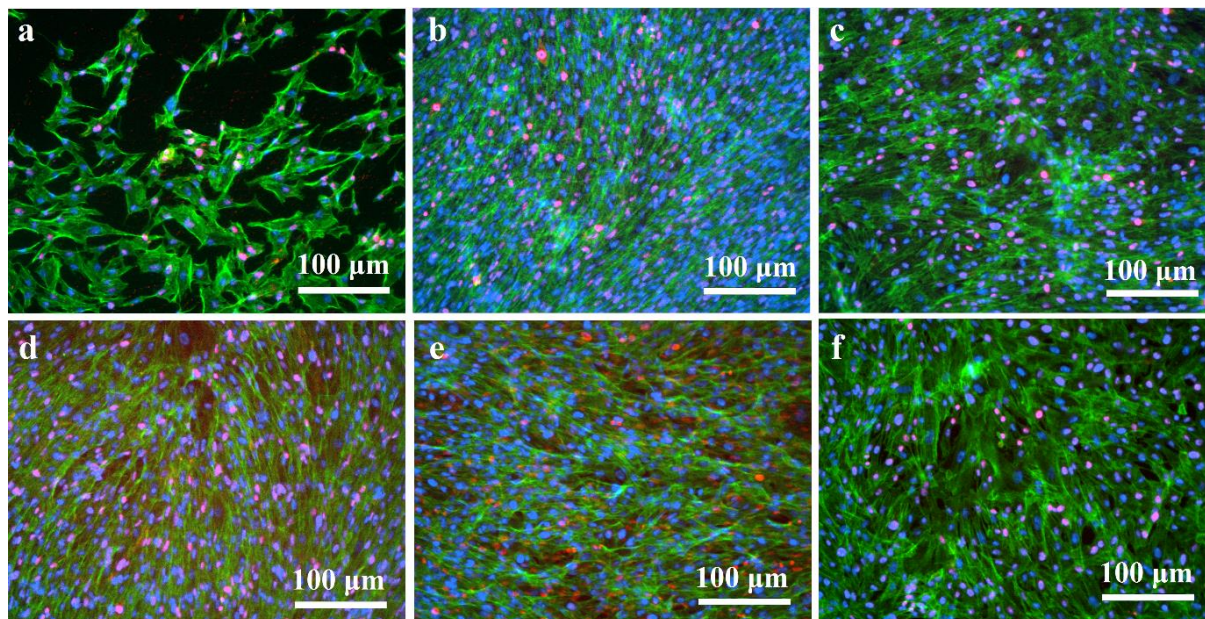


Joonis 13. Fluorestsentsmikroskoobi pildid: a) liivapritsiiga töödeldud Ti-5 pind rakkudega ja b) liivapritsi ning keemilise söövitatud Ti-5 pind rakkudega. Roheline tähistab tsütoskelette, sinisega on märgitud rakkude tuumad ning roosaga jagunemisvõimeliste rakkude tuumad.

Võrreldes ilma katteta ning ALD meetodil valmistatud ZrO_2 kiledega kaetud Ti-5 objekte on selgelt näha, et ZrO_2 kilede soosivad fibroblastide kinnitumist objektidele. Kõige tihedamalt on fibroblaste 250°C juures sadestatud ALD kattega objektile (Joonis 14, pilt b), rakkude paigutustiheduselt on järgmine 350°C juures sadestatud ALD kattega pind (Joonis 14, pilt d). Paigutustiheduse andmed ja rakkude arv ei ole üks-ühele kooskõlas (Tabel 9 käesoleva töö lisas). Kõige optimaalsemalt on paigutunud rakud objektile, kuhu ZrO_2 kile on sadestatud 300°C juures. Rakkude orientatsioon on mitmes erinevas suunas ja rakud ei ole kasvanud üksteise peale liiga tihedalt. Siinkohal tuleb ka märkida, et käesolevas katses ei saa lugeda rohket rakkude kinnitumist vohamiseks (kontrollimatu paljunemine) ning teha järeldust, et kasutatav kate on kahjuliku toimega. Fibroblastid on epiteelkoe rakud ja paljunevad ning kinnituvad üsna lihtsasti, lisaks kasutati katsetes iga objekti katmiseks 4000 rakku. Katsete tulemuste visuaalsel hindamisel võib öelda, et vähemate rakkude kasvatamine annaks korrektsemad tulemused. Samuti tuleb tulevikus uuringuid jätkata osteoblastide ehk luukoe rakkudega.

Baseerudes tehtud mõõtmistele võib väita, et prima bioühilduva katte saab valmistada mehaaniliselt ja keemiliselt karestatud Ti-5 sulamile aatomkihtsadestuse meetodil tsirkooniumkloriidist ja veest temperatuuril 300°C. Antud kattes on monokliinse ja

tetragonaalse faasi suhe sarnane ning nano-skaalal olev karedus teiste katete omast suurem. Samuti on 300°C juures sadestatud tsirkoonia kate kõige korrosioonikindlam.



Joonis 14. Fluorestsentsmikroskoopia pildid erinevatest rakukasvatuse katsete implantaadipindadest. Rohelisega märgitud tsütoskeletid, sinisega rakutuumad ning roosaga jagunemisvõimeliste rakkude tuumad. Objektid: a) liivapritsiiga karestatud ja keemiliselt töödeldud Ti-5 pind fibroblastidega, b) 250°C juures sadestatud kate töödeldud Ti-5 pinnal fibroblastidega, c) 300°C juures sadestatud kate töödeldud Ti-5 pinnal fibroblastidega, d) 350°C juures sadestatud kate töödeldud Ti-5 pinnal fibroblastidega, e) 400°C juures sadestatud kate töödeldud Ti-5 pinnal fibroblastidega, f) 450°C juures sadestatud kate töödeldud Ti-5 pinnal fibroblastidega.

4. Kokkuvõte

Aatomkihtsadestatud tsirkooniumdioksiidil põhinevad funktsionaalsed katted meditsiinilisele titaanile

Käesolevas töös uuriti võimalusi meditsiinilise titaani bioühilduvuse ja korrosioonikindluse parandamiseks, kasutades selleks mehaanilist ja keemilist eeltöötlust ning aatomkihtsadestatud tsirkooniumdioksiidist (ehk tsirkooniast) katteid. Eelnevalt liivapritsiiga karestatud meditsiinilist titaani töödeldi keemiliselt, kasutades vaheldumisi kaht erinevat lahust: NaOH/H₂O₂ segu ning HCl. Mehaaniliselt ja keemiliselt karestatud pinnad kaeti aatomkihtsadestamise meetodil tsirkoonia kiledega, kasutades lähteaineteks ZrCl₄ ja H₂O. Keraamiliste kilede sadestamine viidi läbi temperatuuridel 250°C, 300°C, 350°C, 400°C ja 450°C, temperatuurid valiti selliselt, et saaks vajadusel võimalikult täpselt jälgida katete faasikoostiste sõltuvusi sadestustemperatuuridest. Sadestatud katete struktuure uuriti XRD meetodil (libiseva kiire analüüsis) ning selgus, et objektidele sadestatud ZrO₂ katted sisaldasid erineval määral kaht tsirkoonia kristallilist faasi, milleks olid monokliinne ja tetragonaalne faas. SEM-i meetodil uuriti katete pinnajärgivust ning objektide pindadele kasvatatud rakkude kinnitumist, et hinnata pindade biosõbralikkust. Kaetud ja katmata katseobjektide bioühilduvust hinnati objektide märguvuse ja sidekoe rakkude kinnitumise, kasvu ja jagunemise järgi, taaskord viidi läbi uuringud SEM-i meetodil, lisaks uuriti rakkudega pindu fluorestsentsmikroskoopia meetodil. Erinevate katseobjektide korrosioonikindlust testiti elektrokeemiliselt, kasutades selleks lineaarset voltamperomeetriat, katete purunemiskindlust hinnati lineaarse voltamperomeetria mõõtmistega pingete vahemikus -1V kuni 10V. Rakukasvatustest selgus, et jagunemisvõimelisi rakke oli enamusel objektidel võrdselt ja piisavalt palju, ainsana paistis rakkude vähesusega silma liivapritsiiga töödeldud ja keemiliselt karestatud Ti-5 pind. Antud prooviobjekti korral oli ka füsioloogilise lahuse märgumiskatses saadud märgumisnurk suurim, s.t. näitas biosobivuse jaoks kõige halvemat märgumist. Nende tulemuste põhjal võiks vastavat objekti teiste objektidega võrreldes klassifitseerida kui organismiga bioloogiliselt halvemini ühilduvaks pinnaks. Lineaarse voltamperomeetria katsed näitasid, et aatomkihtsadestatud tsirkoonia kilede korrosioonikindlus sõltub oluliselt sadestustemperatuurist ning parima vastupidavuse saab, kui kasutada temperatuure 250°C või 300°C. Võttes aluseks tehtud analüüsid ning otsesed mõõtmistulemused, siis võib väita, et parima bioühilduva katte saab mehaaniliselt ja keemiliselt karestatud Ti-5 sulami pinnale valmistada ALD meetodil tsirkooniumkloriidist ja veest temperatuuril 300°C.

Atomic layer deposited zirconium dioxide based functional coatings for medical grade titanium

In this work, the possibilities of enhancing the corrosion resistance and biocompatibility of medical titanium by utilizing mechanical and chemical pretreatments and ZrO₂ coatings that were synthesized by atomic layer deposition (ALD) was studied. Substrates that were previously roughened by sandblasting, were treated chemically in NaOH/H₂O₂ and HCl solutions. Atomic layer deposition of ZrO₂ coatings from ZrCl₄ and water (H₂O) precursors was carried through at 250°C, 300°C, 350°C, 400°C and 450°C, temperatures were chosen so that it would be possible to track changes in coatings' structures and link them to changes in deposition temperatures. The coatings' structures were studied with XRD and it was found that all deposited films exhibited mix of monoclinic and tetragonal phases. SEM method was used to study the coatings' surface properties and attachment of cells grown onto the substrates. Epithelial cell attachment, growth and proliferation were assessed by SEM and fluorescence microscopy, wettability and corrosion behavior of the test objects were studied as well. Linear sweep voltammetry tests were carried out to assess corrosion behavior of the coatings and surfaces of test objects. Cell culture tests revealed that all surfaces were biocompatible. However, one substrate, sandblasted and chemically modified Ti-5 surface stood out as it was covered with fewer cells. The same substrate was also most hydrophobic, having the highest contact angle. Corrosion tests showed, that the corrosion resistance of the synthesized films depends on deposition temperature. The best corrosion resistance was observed in the case of the films synthesized at 250°C and 300°C. Taking into account all the results from carried out measurements, it can be said that the best biocompatible coating for sandblasted and acid etched Ti-5 implants can be prepared by ALD method from precursors zirconium chloride and water at 300°C.

5. Viited

- [1] N. S. Manam *et al.*, “Study of corrosion in biocompatible metals for implants: A review,” *Journal of Alloys and Compounds* 701, 698–715 (2017).
- [2] P. R. Castro *et al.*, “Deletion of the chemokine receptor CCR2 attenuates foreign body reaction to implants in mice,” *Microvascular Research* 95-1, 37–45 (2014).
- [3] M. Kastellorizios, F. Papadimitrakopoulos, and D. J. Burgess, “Multiple tissue response modifiers to promote angiogenesis and prevent the foreign body reaction around subcutaneous implants,” *J. Control. Release* 214, 103–111 (2015).
- [4] D. F. Williams, “On the mechanisms of biocompatibility,” *Biomaterials* 29-20, 2941–2953 (2008).
- [5] J. M. Cordeiro and V. a. R. Barão, “Is there scientific evidence favoring the substitution of commercially pure titanium with titanium alloys for the manufacture of dental implants?,” *Mater. Sci. Eng. C* 71, 1201–1215 (2016).
- [6] S. C. Möhlhenrich, N. Heussen, D. Elvers, T. Steiner, F. Hölzle, and A. Modabber, “Compensating for poor primary implant stability in different bone densities by varying implant geometry: A laboratory study,” *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 44-12, 1514–1520 (2015).
- [7] A. Dorogoy, D. Rittel, and R. Korabi, “Modeling dental implant insertion,” *Journal of the Mechanical Behaviour of Biomedical Materials* 68, 42-50 (2017).
- [8] R. Wang, X. He, Y. Gao, X. Zhang, X. Yao, and B. Tang, “Antimicrobial property, cytocompatibility and corrosion resistance of Zn-doped ZrO₂/TiO₂ coatings on Ti6Al4V implants,” *Mater. Sci. Eng. C*, 7-15 (2017).
- [9] J. D. Langhoff *et al.*, “Comparison of chemically and pharmaceutically modified titanium and zirconia implant surfaces in dentistry: a study in sheep,” *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 37, 1125-1132 (2008).
- [10] T. Tuna, M. Wein, M. Swain, J. Fischer, and W. Att, “Influence of ultraviolet photofunctionalization on the surface characteristics of zirconia-based dental implant materials,” *Dent. Mater.* 31, e14–e24 (2015).
- [11] G. Sundell, C. Dahlin, M. Andersson, and M. Thuvander, “The bone-implant interface

- of dental implants in humans on the atomic scale,” *Acta Biomater.* 48, 445–450 (2017).
- [12] C. N. Elias, J. H. C. Lima, R. Valiev, and M. A. Meyers, “Biomedical applications of titanium and its alloys,” *JOM: the journal of the Minerals, Metals & Materials Society* 60, 46–49 (2008).
 - [13] A. Revathi, A. D. Borras, A. I. Munoz, C. Richard, and G. Manivasagam, “Degradation mechanisms and future challenges of titanium and its alloys for dental implant applications in oral environment,” *Mater. Sci. Eng. C* 76, 1354–1368 (2016).
 - [14] S. M. Kurtz, S. Kocagöz, C. Arnholt, R. Huet, M. Ueno, and W. L. Walter, “Advances in Zirconia Toughened Alumina Biomaterials for Total Joint Replacement,” *Journal of the Mechanical Behaviour of Biomedical Materials* 31, 107–116 (2014).
 - [15] E. Aaviksoo, “Meditsiinilise titaani funktsionaliseerimine aatomkihtsade statud kiledega,” University of Tartu, 2015.
 - [16] Y. Zhu, X. Liu, K. W. K. Yeung, P. K. Chu, and S. Wu, “Biofunctionalization of carbon nanotubes/chitosan hybrids on Ti implants by atom layer deposited ZnO nanostructures,” *Appl. Surf. Sci.* 400, 14–23 (2017).
 - [17] Y. Xiang *et al.*, “Construction of poly (lactic- co -glycolic acid)/ ZnO nanorods / Ag nanoparticles hybrid coating on Ti implants for enhanced antibacterial activity and biocompatibility,” *Materials Science and Engineering C* 79, 629–637 (2017).
 - [18] F. Bilo *et al.*, “Atomic layer deposition to prevent metal transfer from implants: An X-ray fluorescence study,” *Appl. Surf. Sci.* 359, 215–220 (2015).
 - [19] A. R. Ananda Sagari *et al.*, “Influence of titanium-substrate roughness on Ca-P-O thin films grown by atomic layer deposition,” *Thin Solid Films* 531, 26–31 (2013).
 - [20] C. N. Elias, D. J. Fernandes, C. R. S. Resende, and J. Roestel, “Mechanical properties, surface morphology and stability of a modified commercially pure high strength titanium alloy for dental implants,” *Dent. Mater.* 31, e1–e13 (2015).
 - [21] L. MatWeb, “ASM Aerospace Specification Metals Inc.,”
<http://asm.matweb.com/search/SpecificMaterial.asp?bassnum=mtp641> .
 - [22] Toxikon Inc., “Toxikon,”
http://www.toxikon.com/resources/biocompatibility_2011.cfm .

- [23] T. Kureha, S. Hiroshige, S. Matsui, and D. Suzuki, "Water-immiscible bioinert coatings and film formation from aqueous dispersions of poly (2-methoxyethyl acrylate) microspheres," *Colloids and Surfaces B : Biointerfaces* 155, 166–172 (2017).
- [24] T. Kokubo and H. Takadama, "How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?," *Biomaterials* 27, 2907–2915 (2006).
- [25] A. Aminian *et al.*, "Enhanced cell adhesion on bioinert ceramics mediated by the osteogenic cell membrane enzyme alkaline phosphatase," *Mater. Sci. Eng. C* 69, 184–194 (2016).
- [26] D. Fernando, N. Attik, N. Pradelle-Plasse, P. Jackson, B. Grosgeat, and P. Colon, "Bioactive glass for dentin remineralization: A systematic review," *Mater. Sci. Eng. C* 76, 1369–1377 (2016).
- [27] A. C. Duncan, F. Weisbuch, F. Rouais, S. Lazare, and C. Baquey, "Laser microfabricated model surfaces for controlled cell growth," *Biosens. Bioelectron.* 17, 431-426 (2002).
- [28] X. Miao, L. Xu, D. Zeng, S. Lin, C. Huang, and X. Liu, "The response of human osteoblasts , epithelial cells , fibroblasts , macrophages and oral bacteria to nanostructured titanium surfaces : a systematic study," *International Journal of Nanomedicine*, 1415–1430 (2017).
- [29] K. Anselme, "Osteoblast adhesion on biomaterials," *Biomaterials* 21, 667–681 (2000).
- [30] G. Soon, B. Pingguan-Murphy, and S. A. Akbar, "Modulation of osteoblast behavior on nanopatterned yttria-stabilized zirconia surfaces," *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 68, 26-31 (2017).
- [31] S. Spriano *et al.*, "How do wettability, zeta potential and hydroxylation degree affect the biological response of biomaterials?," *Mater. Sci. Eng. C* 74, 542-555 (2017).
- [32] G. Soon, B. Pingguan-Murphy, K. W. Lai, and S. A. Akbar, "Review of zirconia-based bioceramic: Surface modification and cellular response," *Ceramics International* 42, 12543-12555 (2016).
- [33] NASA, "Corrosion Technology Laboratory," https://corrosion.ksc.nasa.gov/corr_fundamentals.htm .

- [34] R. I. M. Asri *et al.*, “Corrosion and surface modification on biocompatible metals : A review,” Materials Science and Engineering C (accepted for publication).
- [35] O. P. Kharbanda *et al.*, “Tethering of 3-aminopropyltriethoxy silane films on medical grade V titanium alloy surface through self-assembled monolayers (SAMs) for biomedical applications,” Applied Surface Science 412, 648–656 (2017).
- [36] C. Piconi and G. Maccauro, “Zirconia as a ceramic biomaterial,” Biomaterials 20, 1–25 (1999).
- [37] K. Kato *et al.*, “Stabilized formation of tetragonal ZrO₂ thin film with high permittivity,” Thin Solid Films 557, 192–196 (2014).
- [38] O. Bohnke, V. Gunes, K. V Kravchyk, A. G. Belous, O. Z. Yanchevskiy, and O. I. V Yunov, “Ionic and electronic conductivity of 3 mol% Fe₂O₃-substituted cubic Y-stabilized ZrO₂,” Solid State Ionics 226, 53-58 (2012).
- [39] G. Wang, F. Meng, C. Ding, P. K. Chu, and X. Liu, “Microstructure, bioactivity and osteoblast behavior of monoclinic zirconia coating with nanostructured surface,” Acta Biomater. 6, 990–1000 (2010).
- [40] E. D. de Avila, C. E. Vergani, F. A. Mollo Junior, M. J. Junior, W. Shi, and R. Lux, “Effect of titanium and zirconia dental implant abutments on a cultivable polymicrobial saliva community,” J. Prosthet. Dent. (accepted for publication).
- [41] S. G. Pomarino, “Orthodontic dental movement and its association with the presence of gingival recession,” Revista Odontologica Mexicana 21, e8–e11 (2017).
- [42] M. L. G. Campos *et al.*, “The influence of primary occlusal trauma on the development of gingival recession,” Rev. Clínica Periodoncia, Implantol. y Rehabil. Oral 9, 271-276 (2016).
- [43] T. Arroval, L. Aarik, R. Rammula, V. Kruusla, and J. Aarik, “Effect of substrate-enhanced and inhibited growth on atomic layer deposition and properties of aluminum – titanium oxide films,” Thin Solid Films 600, 119–125 (2016).
- [44] G. He, S. Jiang, W. Li, C. Zheng, H. He, and J. Li, “Interface chemistry and electronic structure of ALD-derived HfAlO / Ge gate stacks revealed by X-ray photoelectron spectroscopy,” Journal of Alloys and Compounds 716, 1–6 (2017).

- [45] S. Mirhashemihaghighi *et al.*, “The role of surface preparation in corrosion protection of copper with nanometer-thick ALD alumina coatings,” *Appl. Surf. Sci.* 387, 1054–1061 (2016).
- [46] M. Basiaga, W. Walke, M. Staszuk, W. Kajzer, A. Kajzer, and K. Nowinska, “Influence of ALD process parameters on the physical and chemical properties of the surface of vascular stents,” *Arch. Civ. Mech. Eng.* 17, 32–42 (2017).
- [47] F. Bilo *et al.*, “Atomic layer deposition to prevent metal transfer from implants: An X-ray fluorescence study,” *Appl. Surf. Sci.* 359, 215–220 (2015).
- [48] M. Sowińska *et al.*, “Analysis of nitrogen species in titanium oxynitride ALD films,” *Appl. Surf. Sci.* 381, 42–47 (2015).
- [49] Helmut Fischer GmbH, “X-Ray Fluorescence Measuring Systems,” <http://xrf-spectroscopy.com/> .
- [50] UC Santa Barbara, “Materials Research Laboratory at UCSB,” <http://www.mrl.ucsb.edu/centralfacilities/x-ray/basics> .
- [51] C. Solá *et al.*, “Galvanic corrosion behaviour of Ti and Ti6Al4V coupled to noble dental alloys,” *Int. J. Electrochem. Sci.* 8, 406–420 (2013).
- [52] V. Zatkalíková, P. Palček, L. Markovičová, and M. Chalupová, “Analysis of Fractured Screw Shaped Ti6Al4V Dental Implant,” *Mater. Today Proc.* 3, 1216–1219 (2016).
- [53] S. Patel, A. Butt, Q. Tao, D. Royhman, C. Sukotjo, and C. G. Takoudis, “Novel functionalization of Ti-V alloy and Ti-II using atomic layer deposition for improved surface wettability,” *Colloids Surfaces B Biointerfaces* 115, 280–285 (2014).
- [54] X. Shi, L. Xu, K. B. Violin, and S. Lu, “Improved osseointegration of long-term stored SLA implant by hydrothermal sterilization,” *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 53, 312–319 (2016).
- [55] Y. Xie, J. Li, Y. Z.M., and Q. Wei, “Nano modified SLA process for titanium implants,” *Materials Letters* 186, 38–41 (2017).
- [56] Q. Flamant, F. G. Marro, J. J. R. Rovira, M. Anglada, "Hydrofluoric acid etching of dental zirconia. Part 1: etching mechanism and surface characterization," *Journal of European Ceramic Society* 36, 121-134 (2016).

- [57] Picosun Oy “Picosun AGILE ALD,”
<http://www.picosun.com/en/products/picosun8482+r-series/> .
- [58] J. Aarik, A. Aidla, H. Mandar, and T. Uustare, “Growth kinetics and structure formation of ZrO₂ thin films in chloride- based atomic layer deposition process,” *Thin solid Films* 408, 97–103 (2002).
- [59] A. Cunha, A. Paula, V. Oliveira, A. Almeida, R. Vilar, and M. Durrieu, “Applied Surface Science Wetting behaviour of femtosecond laser textured Ti – 6Al – 4V surfaces,” *Appl. Surf. Sci.* 265, 97-103 (2013).
- [60] U. S. T. I. Inc, “AZO MATERIALS,”
<http://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=1547> .
- [61] M. Li, Y. Zhao, H. Hao, W. Han, and X. Fu, “Theoretical and practical aspects of using fetal fibroblasts for skin regeneration,” *Ageing Res. Rev.* 36, 32–41 (2017).

6. Lisa

Tabel 8. Elektrokeemiliste katsete kokkuvõtvad tulemused. SB märgib liivapritsiiga töötlust (SB – *sandblasting*) ning CE märgib keemilise karestamise töötlust (CE – *chemical etching*).

Objekt	Töötlusted	Sadestus-temp. (°C)	Korrosioonivoolu tihedus j_{cor} (nA/cm ²)	E _{pit} -1V kuni 2V (V)	E _{pit} -1V kuni 10V (V)
Sile Ti	-	-	7,4	0,95	7,1
SB Ti	-	-	19,9	1,25	2,0
SB Ti	CE	-	16,8	0,65	7,2
SB Ti	CE	250	0,05	-	-
SB Ti	CE	300	0,03	-	-
SB Ti	CE	350	0,05	-	7,6
SB Ti	CE	400	0,12	-	6,4
SB Ti	CE	450	0,05	1,55	6,9

Tabel 9. Katseobjektide koht-tilgutusmeetodil leitud määrgumismurgad (°) füsioloogilise lahuse eksperimendis ning rakukasvatustestide kokkuvõtlikud tulemused. SB määrgib liivapritsiiga töötlust (SB – *sandblasting*) ning CE määrgib keemilise karestamise töötlust (CE – *chemical etching*).

Objekt	Pinna-töötlus	Sadestus-temp. (°C)	ALD ZrO ₂ katte struktuur	Määrgumismurk (°)	Rakkude keskmine arv vaateväljas (tk)	Jagunemismõimelised rakud (%)
Sile Ti	-	-	-	78,5	-	-
SB Ti	-	-	-	95,7	582	6,4
SB Ti	CE	-	-	85,8	348	7,5
SB Ti	CE	250	Tetragonaalne, monokliinne	89,7	1175	4,6
SB Ti	CE	300	Monokliinne, tetragonaalne	62,4	1054	3,8
SB Ti	CE	350	Monokliinne	80,8	931	5,5
SB Ti	CE	400	Monokliinne, tetragonaalne	85,2	901	17,4
SB Ti	CE	450	Tetragonaalne, monokliinne	79,4	610	30

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks:

Mina,

Elyne Aaviksoo,
(sünnikuupäev: 25.10.1991)

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose

„Aatomkihtsadestatud tsirkooniumdioksiidil põhinevad funktsionaalsed katted meditsiinilisele titaanile“,

(lõputöö pealkiri)

mille juhendajad on, MSc Mairo Merisalu, PhD Kristina Mäemets-Allas ja professor Väino Sammelselg

(juhendajate nimed)

1.1. reprodutseerimiseks ainult säilitamise, sealhulgas digitaalarhiivis DSpace säilitamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni. Lõputöö avaldamine ei ole lubatud.

2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigus jääb alles ka autorile.

3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, 31.05.2017 (kuupäev)